

„Grundlegende Untersuchungen zur Wirkung
kalter Plasmen auf kutane Lipidsysteme“

Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften

vorgelegt von
Joanna Hirschberg
aus Braunschweig

genehmigt von der Fakultät für
Natur- und Materialwissenschaften der

Technischen Universität Clausthal,

Tag der mündlichen Prüfung
11.07.2017

Dekan

Prof. Dr.-Ing. Karl-Heinz Spitzer

Vorsitzender der Promotionskommission

Prof. Dr. rer. nat. Dieter Kaufmann

Betreuer

Prof. apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Viöl

Gutachter

apl. Prof. Dr. rer. nat. Wolfgang Maus-Friedrichs

Univ.-Prof. Dr. med. Steffen Emmert

*„Alle Dinge sind Gift, und nichts ist ohne Gift;
allein die Dosis machts, daß ein Ding kein Gift sei.“*
Paracelsus

Danksagung

Mein Dank gilt Allen !!

Kurzfassung

Diese Arbeit basiert auf der Applikation nicht-thermischer, dielektrisch behinderter Plasmen auf einem in-vitro Modell des Stratum corneums. Als Quellenkonzepte finden hier in Umgebungsluft betriebene Volumenentladungen Anwendung, deren Anregung durch Hochspannungspulse im μs - sowie ns-Bereich realisiert wurde. Die Zielsetzung der Arbeit umfasst die Validierung des in-vitro Modells, anhand dessen die Leistungsfähigkeit der Quellenkonzepte im medizinischen Einsatz sowie die Interaktion der Plasmen mit dem Stratum corneum betrachtet wurden.

Die Herstellung des verwendeten Stratum corneum Modells erfolgte durch Anwendung des sogenannten Lipidstrippings. Eine Evaluierung dieses Modells für den plasmamedizinischen Einsatz wurde durch histologische und strukturelle Untersuchungen sowie durch einen Vergleich zwischen Modell und Haut, welcher die Bildung reaktiver Spezies umfasst, realisiert. Es konnte eine gute Eignung des Lipidstrippings als Modell des Stratum corneums festgestellt werden, wobei eine die Haut repräsentierende Wechselwirkung mit den biologisch relevanten Plasmakomponenten gewährleistet wird.

Durch eine detaillierte Charakterisierung der Plasmen, u. a. hinsichtlich ihrer Temperaturverteilungen, Emission ultravioletter Strahlung sowie Konzentration reaktiver Spezies, wurden die Einflüsse der Anregungsart auf die Generation biologisch wirksamer Plasmakomponenten evaluiert. In diesem Rahmen wurde die Flankensteilheit der anregenden Hochspannungspulse als mögliche Stellgröße der Plasmaprozesse für eine Individualisierung der dermatologischen Therapie identifiziert. Darüber hinaus wurde durch eine Diskussion bestehender Grenzwerte eine Abschätzung möglicher Risikopotenziale für den medizinischen Einsatz dieser Plasmen durchgeführt. Durch einen Vergleich der Entladungen konnte eine hohe Leistungsfähigkeit des mittels ns-Pulsen angeregten Plasmas gezeigt werden. Basierend auf einer effizienten Bildung insbesondere von reaktiven Spezies und ultravioletter Strahlung, sowie einem großflächigen und homogenen Entladungsraum, weist dieses Konzept ein hohes Potenzial für den medizinischen Einsatz auf.

Um einen Einblick in die Interaktion zwischen Plasmaentladung und kutanen Lipidsystemen zu erhalten, wurden Studien mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie durchgeführt, in deren Rahmen plasmainduzierte Änderungen

in der Probenoberfläche identifiziert wurden. Es konnte eine Oxidierung, Nitrierung und Nitrosierung sowie ein Abtrag oberflächlicher Lipide nachgewiesen werden. Auch hier ist eine Tendenz sichtbar, nach welcher die durch ns-Pulse angeregte Entladung die größten Änderungen im Stratum corneum hervorruft.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass durch die Validierung des in-vitro Modells ein Vergleich verschiedener, für den medizinischen Einsatz konzipierter Plasmaquellen ermöglicht wird, auch ohne zeit- und kostenintensive in-vivo Studien. Basierend auf den Ergebnissen des Vergleiches wurden die Effizienz und das große Potential der ns-Quelle gezeigt; der nächste Schritt sieht die Entwicklung eines zulassungsfähigen Medizinproduktes vor. Insbesondere gilt es hierbei, die mit ns-Pulsen einhergehende Herausforderung der elektromagnetischen Verträglichkeit dieses Quellenkonzeptes anzugehen.

Abstract

This work is based on the application of non-thermal dielectric barrier discharges on an in-vitro model of the stratum corneum. The plasma discharges were ignited in ambient, the excitation was realised by high voltage pulses with pulse durations in the μ s- and ns-range. The aim of the study comprises the validation of the in-vitro model, which was used afterwards to evaluate the capability of the plasma sources in medical application and to investigate the interaction between plasma and stratum corneum.

The stratum corneum model, produced by stripping of lipids from the human skin, was evaluated by histological and structural investigations. Furthermore, the formation of reactive species on the plasma treated stratum corneum model and the human skin was compared. In summary, the model showed skin-representing interactions with biologically relevant plasma components. In compiling a detailed characterisation of the plasma sources, including their temperature distributions, emission of ultraviolet radiation and the concentration of reactive species, the influence of the type of excitation on the generation of biologically active plasma components was evaluated. Regarding this, the slope of the supply voltage was identified as a possible variable that

can be manipulated to individualise dermatological therapies. In addition, an assessment of possible risk factors of these plasma sources concerning their medical use was carried out by discussing existing limits. Comparing the different discharges with each other, the ns-pulsed plasma concept exhibits the most homogeneous discharge with an efficient formation of reactive species and UV radiation, and thus has a high potential to be used as a medical tool. To gain an insight into the interaction between plasma discharge and stratum corneum, studies were carried out by means of X-ray photoelectron spectroscopy to identify plasma-induced changes in the sample surface. An oxidation, nitration and nitrosation as well as an ablation of superficial lipids could be detected, whereby the ns-pulsed plasma caused the most pronounced changes in the stratum corneum.

In summary, the in-vitro model enables a comparison of performance efficiencies of different medical plasma sources without the effort of performing time-consuming and expensive in-vivo studies. Based on the great potential of the ns-plasma source, further objectives should be aiming at the development of an approval medical device, whereby the electromagnetic compatibility is one challenge to still be solved.

Inhaltsverzeichnis

0	Einleitung	10
1	Kutane Lipidsysteme	14
1.1	Aufbau und Funktion der Haut	14
1.2	Epidermis	16
1.3	Stratum corneum	18
1.4	Erkrankungen der Haut	20
2	Plasmatechnologie	24
2.1	Dielektrisch behinderte Entladungen	25
2.1.1	Plasmakenngrößen	25
2.1.2	Charakteristika der DBD	28
2.1.3	Zündmechanismen	29
2.1.4	Plasmachemie	31
2.2	Biologisch wirksame Plasmakomponenten	33
2.2.1	Reaktive Sauerstoffspezies	34
2.2.2	Reaktive Stickstoffspezies	35
2.2.3	Elektrischer Strom	37
2.2.4	UV-Strahlung	38
2.2.5	Temperatur	39
2.3	Plasmen in der Medizin	40
2.3.1	Anwendungsfelder	40
2.3.2	Medizinische Plasmaquellen	44
3	Charakterisierung der Plasmaquellen	48
3.1	Entladungsbild	48
3.2	Leistungsbestimmung	51
3.3	Temperaturmessungen	53
3.3.1	Gas-, Rotations- und Vibrationstemperatur	55
3.3.2	Elektronentemperatur	58
3.4	UV-Emission	60
3.5	Reaktive Spezies	64
3.5.1	Ozon	64
3.5.2	Stickstoffmonoxid	66
3.6	Diskussion	68
4	Lipid-Striping	70
4.1	Cyanoacrylat-Methode	71
4.2	Histologische und strukturelle Untersuchungen	72

INHALTSVERZEICHNIS

4.3	Probenerwärmung	75
4.4	Wechselwirkung mit UV-Strahlung	78
4.5	pH-Wert	79
4.6	Diskussion	81
5	Reflektometrische Messungen	84
5.1	Messmethodik	84
5.1.1	Genauigkeit des Verfahrens	85
5.1.2	Benetzbarkeit der Proben	86
5.2	Nitrit / Nitrat	88
5.3	Wasserstoffperoxid	91
5.4	Ammonium	94
5.5	Diskussion	96
6	Spektroskopische Untersuchungen	100
6.1	Röntgenphotoelektronenspektroskopie	100
6.2	Spektrenanalyse	104
6.3	Vergleich des Einflusses der verwendeten Plasmen	106
6.3.1	Kohlenstoff - C1s	108
6.3.2	Stickstoff - N1s	109
6.3.3	Sauerstoff - O1s	111
6.3.4	Schwefel - S2p	112
6.4	Lipidproben mit FLG-Mutation	113
6.5	Diskussion	114
7	Zusammenfassung und Ausblick	118
	Literatur	121
	Abbildungsverzeichnis	141
A	Abkürzungs- & Symbolverzeichnis	142
B	Publikationen & Vorträge	146
C	Lebenslauf	148

0 Einleitung

Der demografische Wandel ist ein nicht aufzuhaltender Prozess. Die damit einhergehenden Veränderungen in der Altersstruktur der Gesellschaft sowie die der Hektik des Alltags geschuldeten Lebensumstände stellen das deutsche Gesundheitswesen immer wieder vor neue Herausforderungen. Effektive, innovative und kostengünstige Therapieansätze sind zur Bewerkstelligung dieser Situation sowie zur Aufrechterhaltung der Gesundheit und des Wohlbefindens der Bevölkerung notwendig.

Aufgrund ihrer hohen Prävalenz werden Hauterkrankungen wie *atopische Dermatitis* (Neurodermitis), *Psoriasis* (Schuppenflechte) oder krankhaft trockene Haut durch den Begriff der Volkskrankheit geprägt. 14,3 % aller Kinder und 3,9 % der Erwachsenen sind in Deutschland von Neurodermitis betroffen (Erhebungszeitraum 2009 - 2012); steigende Tendenzen sind erkennbar [1, 2]. Betroffene leiden unter Symptomen wie Juckreiz, offenen Stellen und entzündlichen Prozessen, woraus sich erhebliche Einschränkungen im alltäglichen Leben ergeben. Der daraus resultierende Leidensdruck ist enorm; eine Therapie Erkrankter ist bislang nur unzulänglich möglich. Die jährlichen im Rahmen von Therapien durch verschreibungspflichtige Medikamente sowie Pflegesalben und Spezialkosmetika anfallenden Kosten zur Linderung der Symptomatik belaufen sich im deutschen Gesundheitswesen auf rund 8 Mrd. €.

Die Plasmatechnologie stellt an dieser Stelle eine wichtige Schlüsseltechnologie dar. Durch die Gründung der „*International Society for Plasma Medicine*“ im Jahr 2009 wurde die Plasmamedizin als eigenständiges, interdisziplinäres Forschungsgebiet etabliert. Bislang konnten zahlreiche Anwendungsmöglichkeiten erschlossen werden, darunter die Sterilisation temperatursensitiver Oberflächen. Eingesetzt wird dies u. a. in der Krankenhaushygiene, der Behandlung von Wurzelkanälen in der Dentalmedizin, der gezielten Blutgerinnung in der Chirurgie, der Inaktivierung von Krebszellen bis hin zu kosmetischen Applikationen [3, 4]. Die erfolgreiche Anwendung der Plasmatherapie basiert auf einer Vielzahl an Wirkmechanismen; die wesentlichen Alleinstellungsmerkmale sind in den folgenden Punkten zu sehen:

- i) Erfolgreiche Behandlung multiresistenter Keime ohne die Ausbildung weiterer Resistenzen,
- ii) Inaktivierung von Mikroorganismen und krankhaft veränderter Zellen ohne eine Schädigung benachbarter, gesunder Zellstrukturen durch eine selektive Wirkung sowie

0 EINLEITUNG

- iii) kein Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen nach jetzigem Kenntnisstand.

Die therapeutische Anwendung von Plasmaquellen in der Dermatologie nutzt die Interaktion verschiedener im Plasma enthaltener biologisch wirksamer Komponenten. Hierbei werden grundlegend die antimikrobiellen Eigenschaften der Plasmen sowie der positive Einfluss der Behandlung auf den kutanen pH-Wert, wodurch einer erneuten Besiedlung mit Bakterien entgegengewirkt wird, genutzt. Darüber hinaus findet die Stimulation regenerativer Prozesse Anwendung, um beispielsweise die Heilung chronischer Wunden zu fördern [5, 6, 7]. Für den dermatologischen Einsatz geeignete Plasmen sind die sogenannten „kalten Atmosphärendruckplasmen“, welche meist auf dem Prinzip der dielektrisch behinderten Entladung („*dielectric barrier discharge*“, kurz DBD) basieren [3]. Das Anwendungspotenzial der Plasmatherapie kann derzeit aufgrund der nicht vollständig aufgeschlüsselten physikalischen und chemischen Plasmaprozesse noch nicht vollends ausgeschöpft werden. An dieser Stelle setzt die hier vorgelegte Dissertation an; Abb. 1 dient der Veranschaulichung der dazu realisierten Studien.

Basierend auf einem detaillierten Vergleich verschieden angeregter DBD - Anwendung von Pulsdauern im μs - sowie ns-Bereich - einhergehend mit einer gezielten Parametrisierung werden Stellgrößen der Plasmaprozesse identifiziert. Durch diese Einblicke in die chemischen und physikalischen Prozesse kann eine individuelle Einstellung der Plasmakomponenten ermöglicht werden. Einen weiteren Eckpfeiler dieser Arbeit bildet das hinsichtlich seiner Eignung in plasmamedizinischen Untersuchungen studierte in-vitro Modell der obersten Hautschicht, das *Stratum corneum*. Hierdurch soll die Grundlage zur Etablierung eines Hautmodells in dem Forschungsfeld der Plasmamedizin geschaffen werden. Ein weiterer Aspekt ist die Analyse der Interaktionen der Plasmen mit dem *Stratum corneum*, wodurch ein weiterer Schritt in Richtung der Klärung der Wirkmechanismen einer dermatologischen Plasmatherapie geliefert wird.

Beruhend auf den gewonnenen Erkenntnissen wird ein Beitrag zur Etablierung der Plasmatechnologie zum weitgefächerten Einsatz in der Dermatologie geleistet. Darüber hinaus wird die Chance der personalisierten Therapie durch eine gezielte Anpassung der Plasmaparameter auf das jeweilige Krankheitsbild beleuchtet.

Um in das interdisziplinäre Forschungsfeld der Plasmamedizin einzuführen, werden an dieser Stelle grundlegende Begriffe der Plasmatechnologie und -medizin, Dermatologie und der verwendeten Messtechnik erläutert. In Kapi-

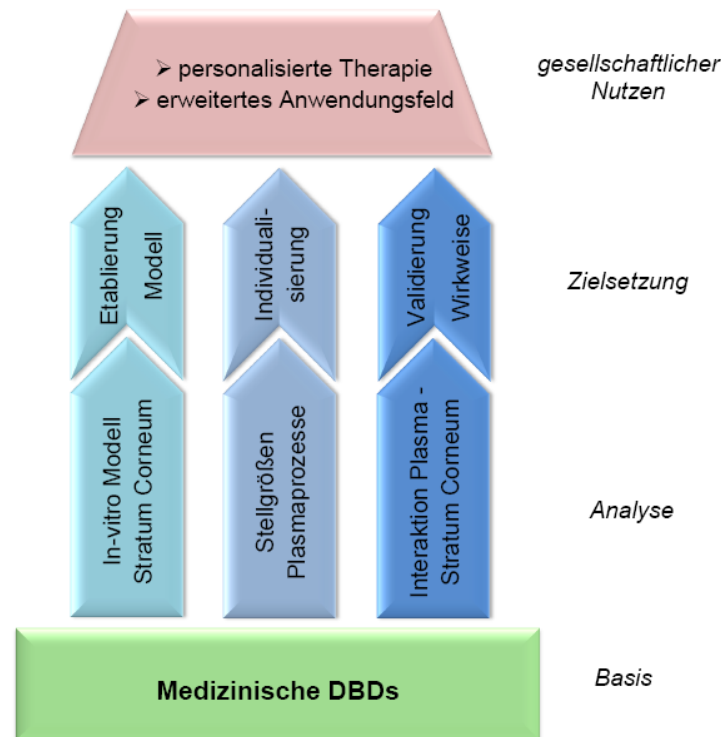


Abbildung 1: Flussdiagramm zur Struktur der Forschungsaktivitäten.

tel 1 wird explizit auf den Aufbau der Haut eingegangen, dabei liegt der Fokus auf der Struktur und Funktion des *Stratum corneums*. Der komplexe molekulare Aufbau dieser wichtigen Barriere wird detailliert dargestellt. Im Weiteren wird auf die Auswirkungen einer Verhornungsstörung (die Filaggrin-Mutation), auf die Bildung des *Stratum corneums*, kurz SC, und der daraus resultierenden Krankheitsbilder eingegangen.

Das Kapitel 2 umfasst einen Einblick in die Grundlagen der dielektrisch behinderten Entladung, deren Anregung, Zündmechanismen und Plasmachemie. Die bereits identifizierten biologisch wirksamen Plasmakomponenten wie reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, UV-Strahlung und Temperatur sowie ihr Einsatz in der konventionellen Therapie werden vorgestellt. In diesem Rahmen werden auch der Stand der Forschung und Technik hinsichtlich der in der Dermatologie etablierten Quellenkonzepte sowie die bereits erschlossenen Anwendungsfelder beleuchtet.

In Kapitel 3 werden die verwendeten Plasmaquellen vorgestellt. Durch eine detaillierte Charakterisierung wird eine quantitative Evaluation der Plasma-

0 EINLEITUNG

bestandteile realisiert, auf Grundlage derer ein Vergleich der verschiedenen Entladungen sowie ihre Eignung für den dermatologischen Einsatz diskutiert wird. Dieser Abschnitt der Arbeit entspricht der mittleren „Säule“ des in Abb. 1 dargestellten Flussdiagramms, die resultierenden Erkenntnisse wurden in [8, 9] veröffentlicht.

Im Anschluss werden weitere Ergebnisse dieser Arbeit vorgestellt, beginnend in Kapitel 4 mit den Studien zur Eignung der genutzten Stripping-Probe als Modell des SC in plasmamedizinischen Untersuchungen. Hierbei werden die beobachteten plasmainduzierten Effekte auf Haut und SC-Modell gegenübergestellt, um Aussagen zu eventuellen Einschränkungen treffen zu können. Auf dieser Vorgehensweise basierend erfolgt die Etablierung des SC-Modells welche die linke „Säule“ des Flussdiagramms (siehe Abb. 1) repräsentiert. Die dazugehörigen Ergebnisse wurden in [10] zusammengefasst.

Auf Grundlage dieses Modells werden in Kapitel 5 zahlreiche, durch eine Plasmapehandlung auf der Oberfläche gebildeter Reagenzien - im Detail Nitrit, Nitrat, Wasserstoffperoxid und Ammonium - untersucht. Es erfolgt wiederum ein Vergleich der eingesetzten Entladungen sowie eine Diskussion möglicher Wirkweisen dieser Stoffe in und auf der Haut.

Kapitel 6 umfasst abschließend die Untersuchung plasmainduzierter Änderungen in der elementaren Zusammensetzung des SC-Modells. Hierfür findet die Röntgenphotoelektronen-Spektroskopie Anwendung, welche einen Einblick in die chemische Zusammensetzung der Probe und darüber hinaus Aussagen über die in der Probe vorliegenden Bindungszustände ermöglicht. Im Detail wird der Kohlenstoff-, Stickstoff-, Sauerstoff- und Schwefelanteil der Substrate analysiert. Neben den Substraten, welche gesunde Haut repräsentieren, wurden an dieser Stelle auch SC-Proben mit vorliegender Filaggrin-Mutation studiert, Unterschiede identifiziert sowie mögliche Ansätze der Plasmatherapie diskutiert.

Die abschließenden Ergebniskapitel 5 - 6 analysieren die Interaktion zwischen Plasma und SC und entsprechen somit der rechten „Säule“ des in Abb. 1 präsentierten Flussdiagramms. Die entsprechenden Studien wurden in [11, 12] publiziert.

1 Kutane Lipidsysteme

Dieses einleitende Kapitel dient dazu einen Überblick über das Organ Haut zu geben. Beleuchtet werden neben dem allgemeinen Schichtaufbau die Funktionen der einzelnen Hautsektionen. Da in dieser Arbeit die Wechselwirkung kalter Plasmen mit der obersten Hautschicht, dem sogenannten *Stratum corneum*, im Folgenden als SC bezeichnet, untersucht werden, wird dieser besondere Aufmerksamkeit geschenkt. Im Detail werden die Auswirkungen der Integrität des SC auf dessen Barrierewirkung sowie eine auf der Filaggrin-Mutation basierende Verhornungsstörung der Haut vorgestellt. Neben Untersuchungen hinsichtlich plasmainduzierter Änderungen in gesunder Haut wird in dieser Arbeit auch die Möglichkeit validiert, die Plasmatherapie zur Behandlung gestörter Barrierewirkungen einzusetzen. Dieses Kapitel bietet die notwendigen dermatologischen Grundlagen.

1.1 Aufbau und Funktion der Haut

Die Haut stellt das größte Organ des Menschen dar und bildet mit einer Fläche von bis zu 2 m² die Grenze zu unserer Umwelt. Die Aufgaben und Funktionen der Haut sind ebenso komplex wie ihr Aufbau [13]. Die äußerste Schicht der Haut bildet die *Epidermis* (Oberhaut), ein vielschichtiges Plattenepithel bestehend aus sich differenzierenden Keratinozyten. Darunter liegt die durch die Basalmembran von der *Epidermis* getrennte *Dermis* (Lederhaut), bestehend aus einem Stützgerüst aus Kollagenfasern, in welches Nervenzellen und Blutgefäße eingebettet sind. Darüber hinaus befinden sich hier die Schweiß- und Talgdrüsen mit ihren nach außen gerichteten Kanälen. Die Aufgaben der *Dermis* liegen neben der Versorgung der nicht durchbluteten *Epidermis* in der Sicherstellung der Zugfestigkeit und Elastizität der Haut [14]. Die innerste Schicht der Haut wird als *Subkutis* (Unterhaut) bezeichnet. Diese besteht aus Fettgewebe und lockerem Bindegewebe und verbindet die darüberliegenden Hautschichten mit der darunterliegenden Muskulatur. Sie ermöglicht eine relative horizontale Verschiebung der Haut, wodurch sie essentiell für die Bewegungsfunktion der Gelenke ist [14]. Weitere Funktionen sind die Wärmeisolierung des Organismus durch den hohen Anteil an Fettzellen sowie die Stoßdämpfung [14]. Die nachstehende Schemazeichnung (Abb. 2) soll einen Überblick über den Aufbau der Haut geben; eingezeichnet wurde die grobe Einteilung in die genannten drei Sektionen sowie die strukturelle Zusammensetzung der jeweiligen Schichten.

Die Anforderungen an das Schichtsystem Haut sind vielfältig und gehen von homöostatischen Prozessen über Barriereeigenschaften bis hin zur Sinnes-

1 KUTANE LIPIDSYSTEME

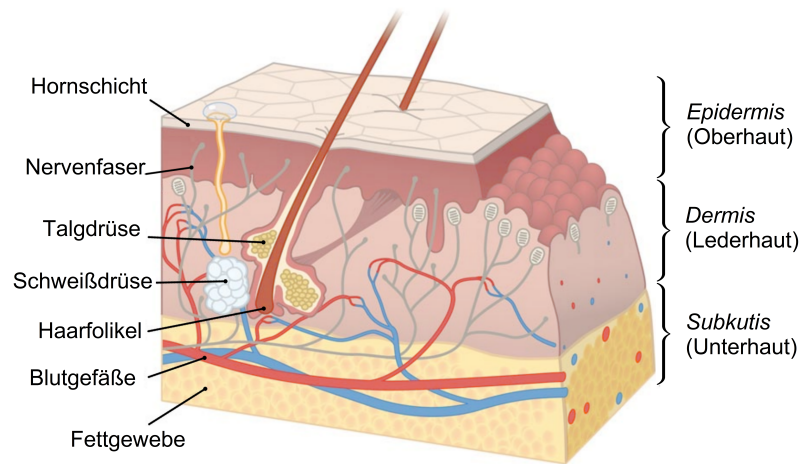


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Hautstruktur, nach [15].

wahrnehmung. Im Detail werden regulatorische Funktionen durch die Anpassung des Wärmeverlustes an die Außentemperatur sowie die Steuerung der Wasserabgabe wahrgenommen. Des Weiteren wird die Ausscheidung von Salzen und Fettstoffen durch die in der Haut befindlichen Schweiß- und Talgdrüsen reguliert. Auf der Hautoberfläche bilden die Schweiß- und Talgabsonderungen die Grundlage des sogenannten *Säureschutzmantels* der Haut. Dieser wiederum ist essentiell für die Barrierefunktion der Haut gegenüber Fremdstoffen sowie Mikroorganismen [14, 16].

Eine weitere Anforderung an die Haut ist die mechanische Schutzfunktion, wobei die Haut als Gerüst- und Stützsystem für den gesamten Organismus auftritt. Speziell wird hierbei der Schutz gegenüber äußeren Traumata aber auch gegenüber physikalischen Einflussfaktoren verstanden. So reagiert die Haut z. B. auf eine Exposition mit UV-Strahlung mit der Bildung von Melanin in den Pigmentzellen. Darüber hinaus spielt die Haut bei der Sinneswahrnehmung eine wichtige Rolle: Schmerz-, Temperatur- und Tastreize werden durch die in der Haut befindlichen Nerven weitergeleitet [13, 14].

Für die Evaluierung der Funktionalität der Haut stehen zahlreiche Parameter zur Verfügung. Diese werden durch verschiedene Faktoren beeinflusst, wobei eine Klassifizierung in endogene und exogene Faktoren erfolgt. Zu den endogenen Faktoren zählen das Alter, das untersuchte Hautareal, die genetische Veranlagung, die ethnische Herkunft sowie die abgesonderte Menge an Schweiß und Talk. Unter dem Begriff exogene Faktoren sind Kosmetika und Seifen, hautreizende Stoffe oder antibakterielle Mittel zu verstehen, die äußerlich auf die Haut aufgebracht werden [17].

Zur Validierung der Hautmorphologie und der Hautfunktion ist das Heranziehen der Parameter Wasserverlust, Feuchtigkeit, Fettgehalt, Elastizität, Rauheit, kutaner pH-Wert sowie die Bestimmung der Faltentiefe eine etablierte Methodik. Anhand dieser Parameter wird beispielsweise auch die Wirksamkeit von Kosmetika untersucht [18, 19, 20].

1.2 Epidermis

Die *Epidermis* bildet die Grenzfläche des Organismus zu seiner Umwelt. Sie besteht hauptsächlich aus vier Zelltypen, den hornbildenden Keratinozyten, den Pigmentzellen, auch Melanozyten genannt, den für die körpereigene Immunabwehr zuständigen Langerhanszellen sowie den Merkelzellen, welche für die Sinneswahrnehmung der Haut zuständig sind. Allgemein wird die *Epidermis* in fünf Schichten unterteilt, die sich in Aufbau und Funktion unterscheiden. Von innen nach außen betrachtet bildet das *Stratum basale* die erste Schicht, darauf aufbauend das *Stratum spinosum*, das *Stratum granulosum*, das *Stratum lucidum* sowie abschließend das *Stratum corneum* [13, 14].

In der untersten Schicht der *Epidermis*, dem *Stratum basale* werden fortwährend Keratinozyten und Melanozyten gebildet. Diese Sektion der Haut ist unmittelbar mit der darunterliegenden Basalmembran, auch dermoepidermale Junktionszone genannt, verbunden. Diese Membranschicht ist sowohl für den Zusammenhalt als auch für die Trennung zwischen der *Dermis* und *Epidermis* zuständig. Darüber hinaus beeinflusst die Basalmembran die Wundheilung, indem Prozesse wie die Proliferation¹, Differenzierung und Migration² der basalen Keratinozyten angeregt werden [21]. Die Verankerung des *Stratum basale* auf der dermoepidermalen Junktionszone erfolgt durch sogenannte Hemidesmosomen. Diese Proteinkomplexe sitzen in der Zellmembran basaler Keratinozyten und verbinden die im Zellinneren enthaltenen Keratinfilamente mit der Basalmembran [14].

Die Keratinozyten durchlaufen, ausgehend vom *Stratum basale*, einen Verhornungsprozess (Keratinisierung), in dessen Verlauf sie die einzelnen Schichten der *Epidermis* durchqueren. An der Hautoberfläche angekommen, kommt es zu einem Absterben der Zellen. Die anschließende Abschuppung dieser ist Teil des fortwährenden Regenerationsprozesses der Haut [21, 22]. Im *Stratum spinosum*, in welchem eine Zellart des Immunsystems, die antigenbildenden Langerhanszellen lokalisiert sind, beginnt der Prozess der Keratinisierung. Im

¹Prozess, welcher die Zellteilung bzw. das Zellwachstum bezeichnet

²Prozess, welcher die aktive Ortsveränderung von Zellen bzw. Zellkomplexen innerhalb des Organismus bezeichnet

1 KUTANE LIPIDSYSTEME

Stratum granulosum differenzieren die Keratinozyten, u. a. durch einen Verlust des Zellkerns zu Korneozyten. Zu diesem Zeitpunkt ist das Höchstmaß der Verhornung erreicht. Das folgende *Stratum lucidum* weist eine geringe Ausdehnung, kombiniert mit einer hohen Packungsdichte auf und bildet eine effektive Barriere. Im anschließenden *Stratum corneum* liegen die Korneozyten eingebettet in eine Lipidmatrix in einer abgeflachten Form vor [21, 23]. Aufbau und Funktion des SC werden im Detail in Kap. 1.3 erläutert.

Die Differenzierung der Keratinozyten während ihrer Wanderung durch die *Epidermis* stellt die Grundlage der effektiven Barrierewirkung des SC dar. Die Bezeichnung der Keratinozyten ist auf das in ihnen reichlich vorhandene Stützgerüst, die Intermediärfilamente, zurückzuführen. Diese enthalten als Hauptbestandteil der Hornsubstanz erhebliche Mengen an Keratin. Die Intermediärfilamente gehen vom Zellkern aus, durchspannen das Cytoplasma und sind mit den Desmosomen verbunden. Desmosomen sind punktförmige Verbindungsstellen zwischen einzelnen Keratinozyten und sind maßgeblich für die Integrität der *Epidermis* verantwortlich. Beim Übergang lebender Keratinozyten zu zellkernlosen Korneozyten werden die Desmosomen durch weitere Proteine stabilisiert [21, 22]. Des Weiteren findet eine Verstärkung der innenliegenden Zellmembran durch Proteinkomplexe statt. Intrazellulär bilden die Intermediärfilamente im Laufe der Differenzierung zusammen mit dem großen Strukturprotein Filaggrin eine hochorganisierte Matrix [21]. Die entstehenden abgeflachten und dicht gepackten Korneozyten bilden eingebettet in eine Lipidmatrix die oberste Hautschicht. Die Lipide werden als lamellare Granula, Bestandteil der Keratinozyten, beim Übergang in das *Stratum corneum* abgegeben [14, 21].

Die Haut im Allgemeinen und die *Epidermis* im Besonderen wird externem Stress ausgesetzt, u. a. durch die Exposition mit UV-Strahlung. Dieser führt zur Bildung zahlreicher reaktiver Spezies in der Haut. Allgemein ist die Gruppe der reaktiven Spezies gekennzeichnet durch eine hohe chemische Reaktivität, einhergehend mit einer schädigenden Wirkung auf Lipide, Proteine, Zellkerne und die DNA, wodurch der Zelltod initiiert werden kann [24]. Der Begriff der Lipidperoxidation kennzeichnet hierbei einen durch reaktive Spezies hervorgerufenen oxidativen Abbau der Lipide. Meist betroffen sind die Doppelbindungen ungesättigter Fettsäuren; durch einen Elektronenverlust entstehen Fettsäureradikale. Hierdurch wird eine Kettenreaktion ausgelöst, welche meist durch als Radikalfänger fungierende Antioxidantien unterbrochen wird [24].

Neben den schädlichen Einflüssen der reaktiven Spezies werden ihnen auch physiologisch wichtige Aufgaben zugesprochen: Durch Verletzungen in der Haut werden physiologische Prozesse initiiert, welche über Wachstumsfak-

1 KUTANE LIPIDSYSTEME

toren und Entzündungsmediatoren die Geweberegeneration und die Abwehr von Infektionen regulieren. Die epidermalen Wachstumsfaktoren, kurz EGF („*Epidermal Growth Factors*“), spielen als Signalmoleküle eine essentielle Rolle in der Einleitung der Zellteilung; Entzündungsmediatoren sind im Organismus auftretende Substanzen, welche inflammatorische Prozesse beeinflussen [25]. Keratinozyten werden während des Wundheilungsprozesses Entzündungsreizen ausgesetzt und reagieren auf diese mit der Produktion von Stickstoffmonoxid und Wasserstoffperoxid. Diese Spezies unterstützen mit ihrer zytotoxischen Wirkung den in der ersten Phase der Wundheilung dominierenden Prozess der Immunabwehr. Die parallel auf die Keratinozyten wirkenden EGF hemmen die zellinterne Produktion von oben genannten reaktiven Spezies. Die EGF sind somit Antagonisten der Entzündungsmediatoren. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass reaktive Spezies eine wesentliche Rolle bei der Regulierung der Zellproliferation sowie bei der Eindämmung entzündlicher Prozesse spielen [25].

1.3 Stratum corneum

Das *Stratum corneum* besteht aus aus toten Hornzellen, den sogenannten Korneozyten, welche in eine Lipidmatrix eingebunden sind. Die Lipide sind dabei hauptverantwortlich für die Barriereeigenschaft und den Stofftransport der Haut [16, 23]. Das SC ist aus 15- 25 Zellschichten aufgebaut, wobei die Anzahl sowie deren Ausdehnung je nach Körperregion starken Schwankungen unterworfen ist. Die einzelnen Korneozytenlagen sind durch eine 4- 5 nm dicke Lipiddoppelschicht unterbrochen. Zur Veranschaulichung dient hier das „Backstein-Mörtel-Modell“: die zellkernlosen Korneozyten bilden die Backsteine, die umgebene Lipidmatrix agiert als Mörtel [16, 26].

Die Korneozyten bestehen aus dicht gepackten Keratinfasern und sind umhüllt von einer aus Lipiden sowie Proteinen bestehenden Zellmembran. Die Bausteine aller Proteine bilden die proteinogenen Aminosäuren. Diese bilden über Peptidbindungen lange Ketten aus; die entstehenden Aminosäuresequenzen bilden die sogenannte Primärstruktur der Proteine. Peptidbindungen entstehen zwischen den Carboxyl-Gruppen (-COOH) und den Amino-Gruppen (-NH₂) der Aminosäuren unter Abspaltung von Wasser. Der räumliche Aufbau der Proteine resultiert u. a. aus der Wasserstoffbrückenbildung sowie aus stabilisierend wirkenden Disulfidbrücken. Bedingt durch u. a. die Disulfidbrücken bildenden Aminosäuren (Cystein und Methionin) ist Schwefel neben Kohlenstoff, Stickstoff und Sauerstoff ein wesentlicher Bestandteil des SC [23].

1 KUTANE LIPIDSYSTEME

Die im Inneren der Korneozyten lokalisierten Keratin-Intermediärfilamente sind reich an den Aminosäuren Glycin und Serin und liegen eingebettet in einer histidinreichen Filaggrin-Matrix vor [22, 27]. Diese Filamente weisen auch Disulfidbrücken auf, welche in ihrer Funktion als Quervernetzung wiederum eine stabilisierende Wirkung haben. Die auch stabilisierend wirkenden Desmosomen werden im SC speziell als Korneodesmosomen bezeichnet. Sie bestehen aus hydrophilen Transmembranproteinen, an welche kovalent ein oder mehrere Zucker gebunden sind, wodurch sie auch als Glykoproteine bezeichnet werden. Pro Korneozyt können 400 - 600 solcher Verbindungsstellen existieren. Es wird vermutet, dass die Wirkstoffaufnahme wasserlöslicher Substanzen entlang dieser Verbindungsstellen stattfindet. Da die Transmembranproteine zu beiden Seiten die Lipiddoppelschicht durchdringen, bilden sie darüber hinaus ein stabiles Strukturgerüst für die lamellare Organisation der interzellulären Lipidmatrix [16, 22].

Die Hauptbestandteile der Lipiddoppelschicht sind freie Fettsäuren, Ceramide sowie Cholesterol, welche grob im Verhältnis 1:1:1 vorliegen. Die freien Fettsäuren umfassen dabei sowohl gesättigte als auch ungesättigte Fettsäuren mit variierenden Kettenlängen [23]. Die Ceramide sind die einfachste Untergruppe der Sphingolipide. Sie bestehen aus einer Fettsäure, die durch eine Amidbindung (NH-Bindung) an ein Sphingosinmolekül gebunden ist. Allgemein werden neun Klassen von Ceramiden unterschieden. Die strukturellen Unterschiede der Klassen ergeben sich aus der Kombination dreier Fettsäuren mit drei Sphingoidbasen [21, 23]. Den langkettigen Ceramiden I, IV und IX wird eine besondere Bedeutung zugeschrieben, da diese durch ihre lange Seitenkette bis in die nächste Lipidschicht hineinreichen. Bei der Bildung dieser Gruppe von Ceramiden wird die ω -Hydroxyfettsäure mit Linolsäure verestert, wodurch ihr eine essentielle Bedeutung zuteil wird. Ein Mangel an diesen Ceramiden oder an Linolsäure führt zu einer gestörten Barrierefunktion und einer damit einhergehenden verminderten Feuchtigkeit der Haut [16, 23]. Bei dem in den Hautlipiden enthaltenen Cholesterol handelt es sich neben dem eigentlichen Cholesterol auch um dessen Derivate, beispielsweise Cholesterolsulfat. Hierdurch sind auch geringe Mengen an Schwefel in der Lipidmatrix nachzuweisen [21, 22].

Die extrazelluläre Lipidmatrix, aufgebaut aus den vorgestellten Komponenten, weist eine hohe strukturelle Organisation auf, welche in erheblichem Maße für die Barrierefunktion des SC verantwortlich ist. Durch den hohen Grad der Organisation ergibt sich eine in der Lipiddoppelschicht nach außen gerichtete polare, hydrophile Zone sowie eine innere lipophile Zone [22]. Im Zusammenwirken mit den eingebetteten Korneozyten bildet sich eine wasserabweisende Schicht [23].

Das Wasserkonzentrationsgefälle, angefangen im *Stratum granulosum* über das *Stratum corneum* hin zur Umgebungsluft, führt zu einer kontinuierlichen Abgabe von Wasser an die Umgebung. Dieser natürliche Verlust wird als transepidermaler Wasserverlust, kurz TEWL („*transepidermal water loss*“), bezeichnet [16]. Die durch die Haut verlorene Wassermenge ist dabei maßgeblich abhängig von der Integrität des SC. Bei dem hier beschriebenen Wasserverlust handelt es sich um einen passiven extraglandulären Vorgang (außerhalb einer Drüse), welcher nicht steuerbar ist. Dem gegenübergestellt ist der aktive glanduläre Wasserverlust, welcher durch Transpiration entsteht und der Regulierung der Körpertemperatur dient.

Die „*Natural Moisturising Factors*“ sind körpereigene Substanzen, die Wasser in der Hornschicht binden. Sie setzen sich aus Bestandteilen von Schweiß, Talk und Produkten des Verhornungsprozesses zusammen und sind metabolische Produkte der Korneozyten. Die häufigsten Vertreter der „*Natural Moisturising Factors*“ sind die freien Carbon- und Aminosäuren mit rund 40 %; weitere Stoffe sind u. a. Harnstoff, Natrium- und Kalium-Ionen sowie Lactat. Sie sind verantwortlich für die Hautfeuchtigkeit sowie für den Schutz vor frühzeitiger Hautalterung und können als natürliche Radikalfänger fungieren.

Radikalfänger, auch Antioxidantien genannt, sind für den Schutz des SC von essentieller Bedeutung, da dieses als oberste Schicht der Haut der Fokus oxidativer Schädigung ist. So konnte ein Abbau oberflächlich aufgetragener Antioxidantien durch z. B. hohe Ozondosen gezeigt werden. Da viele Sauerstoffradikale, welche auf die Haut auftreffen, schnell mit Biomolekülen reagieren und meist nicht die Zellmembran durchdringen können, wird davon ausgegangen, dass diese hauptsächlich im SC und im Speziellen in der Lipidmatrix ihre Wirkung entfalten [28]. Daher wurde in dieser Arbeit das SC als Untersuchungsobjekt zum Nachweis plasmainduzierter Änderungen auf bzw. in der Haut gewählt.

1.4 Erkrankungen der Haut

Als Erkrankungen der Haut, auch *Dermatosen* genannt, werden sichtbare Veränderungen dieser und ihrer Anhangsorgane z. B. Schweiß- und Talgdrüsen bezeichnet. Es gibt eine Reihe verschiedener Hautkrankheiten, wobei der Schweregrad der Erkrankung einen Bereich von harmlos (z. B. Akne), über störend (z. B. kleinere Ekzeme) und schmerzhaft (z. B. infizierte chronische Wunden) bis hin zu tödlich (im Fall bösartiger Krebsgeschwüre) reichen kann [29]. Durch die große Anzahl an Erscheinungsbildern und Symptomen, welche mit *Dermatosen* einhergehen können, stehen eine Vielzahl an Ansatz-

punkten für eine Klassifizierung zur Verfügung. Grundlegend wird zwischen lokal auftretende Hauterkrankungen wie Warzen, Wunden oder Hautkrebs und generalisierte Hauterkrankungen wie *atopische Dermatitis* (Neurodermitis), *Psoriasis* (Schuppenflechte) und *Ichthyosen* (Verhornungsstörung) unterschieden. Die meisten Hauterkrankungen, wobei an dieser Stelle nur die weit verbreiteten und generalisiert auftretenden Symptommatiken vorgestellt werden, gehen mit erheblichen Defekten in der *Epidermis* oder SC einher, wodurch deren Integrität erheblich gestört wird. Das Eindringen von Fremdkörpern und Mikroorganismen durch die nun nicht mehr intakte Hautbarriere wird erleichtert, was wiederum Ursache zahlreicher Symptommatiken ist [19, 23].

Neurodermitis und *Psoriasis* sind die wichtigsten Vertreter entzündlicher *Dermatosen*. Sie werden aufgrund der hohen Anzahl an Betroffenen auch als Volkskrankheiten bezeichnet. Patienten leiden unter Juckreiz, Rötungen der Haut sowie einem erhöhten Infektionsrisiko. Als Ursachen dieser Erkrankung wurden eine gestörte Hautbarriere sowie eine genetische Veranlagung identifiziert. Im Fall der *Neurodermitis* kommt meist eine genetisch bedingte Neigung für überschießende Immunreaktionen hinzu [19, 20]. Ziel der etablierten Therapien ist es eine Beschwerdefreiheit der Haut zu erreichen und diese durch eine intensive Pflege zu erhalten. Neben klassischen Salbenverbänden kommen auch alternative Verfahren wie z. B. die UV-Therapie zum Einsatz.

Die *Ichthyose* bezeichnet eine Verhornungsstörung der Haut, die meist genetischen Ursprungs ist. Es sind zahlreichen Formen bekannt; charakteristische Merkmale sind eine Verdickung sowie eine sichtbare Abschuppung des SC, welche auch mit einer Hautrötung einhergehen kann. In dieser Arbeit soll besonderes Augenmerk auf eine leichtere Form dieser Erkrankung, die sogenannte *Ichthyosis vulgaris*, gelegt werden. Diese Form der Erkrankung hat eine hohe Prävalenz; schätzungsweise ist eine von 300 Personen von dieser Verhornungsstörung betroffen [30].

Filaggrin-Mutation

Als Ursache der *Ichthyosis vulgaris* wurde eine genetische Mutation identifiziert, wobei der betroffene Genabschnitt das strukturbildende Protein Filaggrin, kurz FLG, codiert. Mutationen im FLG-Gen wurden als die am weitesten verbreiteten Mutationen in einem Einzelgen identifiziert, welche als Ursache zahlreicher Erkrankungen der Haut auftritt [26, 30]. Schätzungsweise sind 10 % der Personen in Europa Träger dieser Genmutation. Die Folgen können von einer *Ichthyose* bis hin zu Abnormalitäten im transepidermalen Transport von Allergenen reichen. Daraus entsteht für die Betroffenen ein erhöhtes Risiko von Erkrankungen wie der *atopischen Dermatitis*, Kon-

taktallergien, Asthma sowie Heuschnupfen [26].

Filaggrin, als histidinreiches Protein, verbindet - wie bereits erläutert - im Laufe der Differenzierung der Keratinozyten einzelne Keratin-Intermediärfilamente und bewirkt deren Verdichtung. Aus dieser Funktion wurde auch die Bezeichnung Filaggrin für „*filament aggregating protein*“ abgeleitet [26, 30]. Filaggrin bildet schnell Agglomerate mit dem Keratin-Cytoskelett der Zellen und verursacht dadurch den Kollaps zu den abgeflachten Zellen des SC. Somit ist FLG ein Schlüsselprotein zur Aufrechterhaltung der Barrierefunktion sowie zur Unterstützung der Differenzierung [30].

Im *Stratum granulosum* wird Filaggrin aus der Vorstufe Profilaggrin gebildet und reichert sich in den Granula im Zellinneren an [26, 30, 31]. Die Endprodukte des Filaggrins sind im SC im Inneren der Korneozyten nachweisbar [26]. In diesem Bereich ist das Filaggrin erheblichen Modifikationen unterworfen, wodurch zahlreiche freie Aminosäuren gebildet werden, welche in der Haut als „*Natural Moisturizing Factors*“ auftreten. Des Weiteren werden durch den Abbau des FLG Aminosäuren gebildet, welche Aufgaben in der Immunabwehr sowie beim Schutz gegenüber UV-Strahlung wahrnehmen [31]. Darüber hinaus wird auch der kutane pH-Wert durch die aus dem FLG gewonnenen Aminosäuren beeinflusst [19, 26].

Mutationen im FLG-Gen haben zahlreiche Auswirkungen: so weisen Patienten beispielsweise eine gestörte Barrierefunktion auf, welche mit einer erhöhten Penetration von Allergenen und Pathogenen in das SC sowie einem erhöhten TEWL einhergeht [19, 31]. Eine mögliche Ursache ist der durch die gestörte Säureproduktion aus Filaggrin erhöhte kutane pH-Wert, welcher sich negativ auf die Barrierefunktion auswirkt [19, 26]. Auch wird durch die FLG-Mutation die Ausbildung der lamellaren Strukturen zwischen den Korneozyten und den zellulären Verbindungsstellen, u. a. Korneodesmosomen, gestört [26, 31]. Darüber hinaus wurden auch Unterschiede in der Lipidzusammensetzung des SC, speziell im Anteil bestimmter Ceramide, festgestellt [19].

Therapieansätze basieren zum einen auf der Beeinflussung des Immunsystems zur Eindämmung entzündlicher Prozesse, welche die Bildung von Filaggrin herabsetzen. Zum anderen wird versucht, die FLG-Produktion durch Gabe bestimmter Wirkstoffe anzuregen [26]. In der vorliegenden Arbeit soll eine weitere Therapiemöglichkeit beleuchtet werden, indem neben gesunder Haut auch die Wechselwirkungen kalter Plasmen mit der krankhaft veränderten Lipidstruktur von *Ichthyosis vulgaris* Patienten untersucht werden.

2 Plasmatechnologie

Der Plasmazustand bezeichnet ein elektrisch leitfähiges Gas, welches aufgrund seines hohen Energiegehalts ionisiert vorliegt und somit aus einem Gemisch aus Elektronen, positiv geladenen Ionen, Radikalen und Neutralteilchen besteht. Die Erzeugung („Zündung“) eines Plasmas erfolgt durch die Einspeisung von Energie, welche in Form von thermischer oder elektrischer Energie, aber auch durch eine adiabatische Kompression des Gases zur Verfügung gestellt werden kann. Üblicherweise erfolgt die Zündung eines Plasmas durch das Anlegen eines elektrischen Feldes zwischen zwei metallischen Elektroden, welches die im Entladungsspalt vorhandenen Initialladungsträger (Elektronen) auf Energien oberhalb der Ionisierungsenergie beschleunigt. Durch weitere Ionisationsstöße kommt es zur Ausbildung einer Elektronenlawine; das Gas wird ionisiert. Durch die Stöße der Elektronen mit schweren Gasparkeln geben diese einen Teil ihrer Energie ab (Thermalisierung), woraus eine Aufheizung des Gasgemisches resultiert.

In dieser Arbeit wird der Schwerpunkt auf nichtthermische Plasmen, sogenannte „kalte Plasmen“, gelegt, deren Charakteristikum Elektronen mit hoher Energie sowie schwere Gasteilchen mit geringem kinetischen Energiegehalt sind. Zur Realisierung kalter Plasmen muss der Energieübertrag der Elektronen auf die Gasteilchen und somit die Stöße zwischen diesen Teilchen möglichst gering gehalten werden. Hierfür stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung:

- i) Nutzung eines geringen Gasdruckes (Niederdruckplasmen),
- ii) Begrenzung des Raumbereichs, in welchem Ladungsträger generiert werden (Koronaentladung) oder
- iii) Nutzung einer gepulsten Anregung mit kurzen Entladungsdauern (z. B. Barriereentladung).

Letztere zeichnet sich neben ihrer geringen Gastemperatur auch durch einen geringen Stromfluss aus, wodurch diese Plasmen eine gute Eignung für den medizinischen Einsatz aufweisen und daher in dieser Arbeit Anwendung finden. Hierzu wurde bereits im Jahr 2003 ein Patent erteilt, welches die Behandlung von lebenden Zellen enthaltenden biologischen Materialien mit einem durch eine Gasentladung erzeugten Plasma schützt (WO 2004105810, Erfinder Wolfgang: Viöl).

2.1 Dielektrisch behinderte Entladungen

2.1.1 Plasmakenngrößen

Für die Klassifizierung von Plasmen stehen zahlreiche Parameter zur Verfügung, durch welche eine Vergleichbarkeit der verschiedenen Entladungsarten untereinander ermöglicht wird. Grundsätzlich werden Hochtemperatur- und Niedertemperaturplasmen unterschieden, wobei letztere in thermische und nichtthermische Plasmen unterteilt werden. Thermische Plasmen befinden sich im Gleichgewichtszustand und zeichnen sich durch hohe Elektronen-, Ionen- und Neutralgastemperaturen mit $T_E \approx T_I \approx T_N \approx 10^4$ K aus [32]. In nichtthermischen Plasmen kommt es zu keiner Angleichung der Temperaturen, wodurch hohe Elektronentemperaturen von $T_E \approx 10^4$ K, aber geringe Ionen- und Neutralgastemperaturen $T_I \approx T_N \approx 300$ K realisiert werden können. Die DBD („*Dielectric Barrier Discharge*“) ist in diese nichtthermischen Plasmen einzuordnen. Hochtemperaturplasmen liegen hingegen stets im thermodynamischen Gleichgewicht vor [32].

Des Weiteren wird zwischen unselbstständigen sowie selbstständigen Entladungen differenziert, wobei im Fall der unselbstständigen Entladung geringe Spannungen am Gasspalt anliegen und die Leitfähigkeit des Gases durch äußere Ionisationseffekte hervorgerufen wird. Der Übergang zu einer selbstständigen Gasentladung tritt ein bei Erreichen der Durchschlagspannung (auch Zündspannung genannt). Die Anzahl der im Plasmavolumen gebildeten Ladungsträger kann nun die durch Verlustprozesse wie z. B. Rekombination neutralisierten Ionen ausgleichen; die Entladung erhält sich selbst [32, 33].

Die während einer Plasmaentladung im Volumen und durch Oberflächenprozesse generierten Ladungsträger werden durch die Townsend'schen Koeffizienten beschrieben [33]. Der Townsend-Ionisationskoeffizient α umfasst die im Gasraum erzeugten Ladungsträger:

$$\alpha = A \cdot p \cdot e^{\frac{-B \cdot p}{E}}, \quad (1)$$

wobei A und B Konstanten bezeichnen, welche von dem verwendeten Arbeitsgas sowie von dem Elektrodenmaterial abhängig sind, p steht für den Druck und E für das anliegende elektrische Feld. Der zweite Townsendkoeffizient γ beinhaltet die Sekundärelektronenemission und beschreibt die Anzahl an Elektronen, die pro einfallendem Teilchen aus dem Elektrodenmaterial herausgeschlagen werden. Dabei werden Elektronenemissionen, hervorgerufen durch Ionen, hochenergetische Atome und Photonen berücksichtigt [33]. Unter Einbeziehung der Bedingung für selbsterhaltende Entladungen³ sowie

³In einer selbsterhaltenden Entladung werden mehr sekundäre Elektronen erzeugt als durch Verlustprozesse verloren gehen.

2 PLASMATECHNOLOGIE

durch Verwendung der Townsend'schen Koeffizienten kann die Durchschlagspannung U_d in Abhängigkeit von Druck p und Elektrodenabstand d definiert werden [33]:

$$U_d = B \cdot \frac{p \cdot d}{\ln(p \cdot d) + \ln \frac{A}{\ln(1 + \frac{1}{\gamma})}}. \quad (2)$$

Die hier beschriebene Abhängigkeit wird Paschengesetz genannt; sie weist ein Minimum für die Zündspannung auf. Ausgehend vom Minimum der aus Gl. (2) resultierenden Kurve wird durch eine Verringerung des Druckes oder des Elektrodenabstandes die Wahrscheinlichkeit für Stoßprozesse verringert, wodurch die benötigte Zündspannung ansteigt. Ein vergleichbarer Effekt tritt auch durch die Erhöhung des Druckes bzw. des Elektrodenabstandes auf, welche mit einer erhöhten Stoßwahrscheinlichkeit und somit mit einer verringerten Energieaufnahme der Elektronen einhergeht.

Die mittlere freie Weglänge λ_F beinhaltet indirekt die Stoßwahrscheinlichkeit, da sie die von einem Elektron im Plasma zurückgelegte Wegstrecke zwischen zwei Stößen beschreibt. Während dieser Zeitspanne erfolgt die Energieaufnahme der Elektronen im beschleunigend wirkenden äußeren Potenzial; somit ist die mittlere freie Weglänge auch ein Maß für die kinetische Energie der Elektronen. Definiert ist diese Größe über den Kehrwert des Produktes aus Neutralgasdichte n_0 und Wechselwirkungsquerschnitt σ , wobei durch die Abhängigkeit von n_0 die freie Weglänge wiederum eine Funktion der Gastemperatur ist. Der Wechselwirkungsquerschnitt wird beeinflusst durch den jeweiligen Stoßprozess sowie durch die Elektronenenergie [32].

Die Elektronenenergie bezeichnet die aus der Geschwindigkeitsverteilung resultierende mittlere kinetische Energie der Elektronen im Plasma. Zur Beschreibung wird eine Elektronenenergieverteilungsfunktion, im Folgenden kurz EEDF („*Electron Energy Distribution Function*“), verwendet, welche durch eine Maxwell-Boltzmann-Verteilung angenähert werden kann [32]. Diese Verteilung weist drei Freiheitsgrade auf, welche den drei Raumrichtungen entsprechen, wodurch die Elektronentemperatur T_E in Abhängigkeit der mittleren Elektronenenergie ϵ wie folgt beschrieben werden kann:

$$k \cdot T_E = \frac{2}{3} \cdot \epsilon, \quad (3)$$

wobei k die Boltzmannkonstante bezeichnet. Die EEDF trifft Aussagen zu Geschwindigkeitswahrscheinlichkeiten und somit zu Prozessen im Plasma, weshalb sie auch als der „Fingerabdruck des Plasmas“ bezeichnet wird. Die Bestimmung der Elektronentemperatur kann durch die Bildung eines theoretischen Modells erfolgen. Hierbei wird durch die numerische Lösung der

2 PLASMATECHNOLOGIE

Boltzmann-Gleichung die Abhängigkeit des Emissionsspektrums von der reduzierten elektrischen Feldstärke beschrieben [34].

Die reduzierte elektrische Feldstärke ist definiert als der Quotient aus E/n_{Gas} bzw. E/p , wobei n_{Gas} die Gasteilchendichte und p den Druck bezeichnet, und wird in der Einheit Townsend ($1 \text{ Td} = 10^{-21} \text{ V} \cdot \text{m}^2$) angegeben [32]. Diese Größe wird zur Beschreibung von Niederdruck-, Atmosphärendruck- und Hochdruckplasmen verwendet und bietet eine gute Vergleichbarkeit der verschiedenen Entladungen, da der vorherrschende Druck Berücksichtigung findet. Trifft man nun die Annahme eines homogenen elektrischen Feldes im Gasspalt, welchem die freien Elektronen zwischen zwei Stößen folgen, und in Anbetracht der Abhängigkeit der mittleren freien Weglänge vom Druck, kann die Proportionalität zwischen mittlerer Elektronenenergie und reduzierter elektrischer Feldstärke gezeigt werden:

$$\epsilon \sim \frac{1}{2} m_e v^2 \sim \lambda_F E \sim \frac{E}{p}. \quad (4)$$

Zur näheren Beschreibung von Plasmen dienen die Teilchendichten, zu denen die Elektronen- n_e , Ionen- n_i und Neutralgasdichte n_0 zählen. Die Elektronendichte ist ein wichtiges Maß für die ablaufenden chemischen Reaktionen im Plasma, da energiereiche Elektronen die notwendigen Aktivierungsenergien zur Verfügung stellen. Zur Beschreibung der Elektronendichte steht die Saha-Eggert-Gleichung zur Verfügung, welche das Ionisations-Rekombinations-Gleichgewicht umfasst:

$$\frac{n_e \cdot n_i}{n_0} = 2,4 \cdot 10^{21} \cdot \left(\frac{T}{\text{K}}\right)^{\frac{3}{2}} \cdot e^{-\frac{E_i}{kT}} \cdot \text{m}^{-3}, \quad (5)$$

wobei T die Temperatur und E_i die Ionisierungsenergie beschreibt [32]. Voraussetzung für die Anwendung dieser Gleichung ist das Vorliegen eines lokalen thermodynamischen Gleichgewichts⁴ im Plasma, welches durch die Definition einer unteren Grenze für die Elektronendichte anhand des Griem-Kriteriums überprüft wird:

$$n_{\text{ePLTE}} \geq 7 \cdot 10^{18} \cdot \frac{z^6}{n^{\frac{17}{2}}} \cdot \left(\frac{kT_E}{E_H}\right)^{\frac{1}{2}}, \quad (6)$$

mit der Schwerpunktladung des Systems z , der Hauptquantenzahl n und der Ionisierungsenergie für Wasserstoff E_H [35]. Die Ionendichte entspricht in einem einfach ionisierten Plasma der Elektronendichte, bei Mehrfachionisierungen kann die Elektronendichte diese um ein Vielfaches übersteigen.

⁴kurz PLTE („*partial local thermodynamic equilibrium*“)

2 PLASMATECHNOLOGIE

Eine Berechnung der Ionendichten kann über die ideale Gasgleichung erfolgen, welche den Zusammenhang von Druck, Teilchendichte und Temperatur beschreibt:

$$p \cdot V = N_0 \cdot k \cdot T_N + N_e \cdot k \cdot T_E + N_i \cdot k \cdot T_I, \quad (7)$$

wobei N_0 die Neutralteilchenanzahl, N_e die Elektronenanzahl, N_i die Ionenanzahl, T_N die Neutralgastemperatur und T_I die Ionentemperatur beschreibt. In Plasmen wird die Ionendichte auch in Form des Ionisierungsgrades x angegeben, welcher Werte zwischen $x \ll 1$ (schwach ionisiert) bis hin zu $x = 1$ (vollständig ionisiert) annehmen kann [32].

Die in einem Plasma umgesetzte Leistung ist ein weiterer wichtiger Parameter, der die Vergleichbarkeit zwischen verschiedenen Entladungen ermöglicht. Auf den zu behandelnden Oberflächen können aus dieser Kenngröße Leistungsdichten in der Substratebene sowie in Abhängigkeit der Behandlungsdauer aufgebrachte Dosen bestimmt werden. Die Effektivität der Plasmabehandlung, welche plasmainduzierte Änderungen in Abhängigkeit der aufgebrachten Leistungsdichte umfasst, kann auf dieser Grundlage evaluiert werden. Die umgesetzte Energie in einer Entladung ist proportional zu dem Produkt aus der über dem Entladungsspalt anliegenden Spannung und transportierter Ladung integriert über eine Spannungsperiode. Durch Berücksichtigung der Periodendauer kann auf die Leistung geschlossen werden. Diese Berechnung wurde erstmals von Manley gezeigt [36].

2.1.2 Charakteristika der DBD

Dielektrisch behinderte Entladungen sind sich selbst erhaltende, schwach ionisierte Plasmen, in denen es nicht zur Einstellung eines thermodynamischen Gleichgewichtes kommt. Die Umsetzung erfolgt durch Einbringung mindestens einer dielektrischen Barriere in den Entladungsspalt, welche die Eigenschaften der Plasmaentladung maßgeblich beeinflusst. Wesentliche Merkmale des Dielektrikums sind die Permittivität und die daraus resultierende Kapazität im Entladungsspalt, sowie dessen Sekundärelektronenkoeffizient [37].

Die dielektrische Barriere beeinflusst zum einen durch ihre Kapazität den Verschiebungsstrom und begrenzt somit den Ladungstransport durch den Gasspalt, woraus die für die DBD typischen im Mittel geringen Entladungsströme resultieren. Zum anderen wird das Abfließen der Ladungsträger aus dem Gasspalt verhindert, es kommt zur Ausbildung von Oberflächenladungen auf der Barriere. Dadurch baut sich ein dem äußeren anregenden Feld entgegengesetztes inneres elektrisches Feld im Entladungsspalt auf, welches durch den Effekt der Abschirmung einen abschwächenden Effekt auf die anregende Spannung hat [37]. Fällt nun die Spannung im Entladungsspalt unterhalb der

2 PLASMATECHNOLOGIE

Brennspannung, kommt es zum Erlöschen der Entladung. Man spricht von dem Effekt der Selbstauslöschung. Für eine erneute Zündung muss die anliegende Spannung weiter erhöht werden oder eine Spannungsumkehr erfolgen, daher werden üblicherweise Sinusspannungen für die Energieeinkopplung in die DBD verwendet [32].

Nach dem Erlöschen der Entladung kommt es zu einer Rekombination der Ladungsträger; die natürliche Elektronendichte wird nach einigen μs erreicht [38]. Das Abklingen der Oberflächenladungen durch Diffusionsprozesse, welche die Zündung neuer Filamente nach Spannungsumkehr begünstigen, verläuft langsamer, worin das häufig feste Entladungsbild in Form ortsfester Filamente begründet liegt.

Aus dem Selbsterlöschen der Entladung resultieren kurze Entladungszeiten von wenigen ns, wodurch die einzelnen Zündereignisse im Vergleich zur Thermalisierungszeit des Plasmas kurz sind. Die Ausbildung eines thermischen Gleichgewichts wird verhindert, worauf die für die DBD charakteristischen geringen Gastemperaturen basieren, welche häufig im Bereich der Raumtemperatur liegen. Die Thermalisierungszeit beträgt bei Atmosphärendruck einige 10 ns [33].

Das Entladungsbild einer DBD besteht typischerweise aus zahlreichen zeitlich begrenzten parallel gezündeten Filamenten (auch als Mikroentladungen bezeichnet), die sich über den Entladungsraum verteilen. Durch gezielte Parametrisierung des anregenden Spannungspulses, Entladungsspalt und Dielektrikums kann eine feinere Struktur der Filamentierung bis hin zu einer quasihomogenen Entladung erreicht werden [38]. Der Vorteil der DBD ist daher in der Realisierung eines Nichtgleichgewichtsplasmas bei Atmosphärendruck ohne großen technischen Aufwand zu sehen.

2.1.3 Zündmechanismen

Die Zündung einer Entladung findet statt, wenn die über einen Gasspalt angelegte Spannung größer oder gleich der Durchbruchspannung wird. Im entstehenden elektrischen Feld werden Initialladungsträger, vorhanden durch z. B. Höhenstrahlung, beschleunigt. Stöße mit Neutralgasteilchen verursachen Ionisierungsprozesse sowie eine Vervielfältigung der freien Elektronen, wodurch eine Lawine in Richtung der Anode ausgelöst wird. Die Elektronen mit ihrer geringen Masse und der damit einhergehenden hohen Mobilität erreichen innerhalb weniger Nanosekunden (ns) die Anode und hinterlassen im Entladungsspalt schwere, weniger bewegliche Ionen, welche in Richtung der Kathode driften. Diese lösen im Entladungsspalt chemische Reaktionen aus und schlagen weitere Elektronen aus der Kathode, woraus die Sekundär-

elektronenemission resultiert. Jede Elektronenlawine erzeugt im Entladungsspalt ein Filament von bis zu einigen $100\text{ }\mu\text{m}$ Durchmesser und einigen ns Lebensdauer; auf Seiten des Dielektrikums kommt es zur Ausbildung eines Fußpunktes [33, 37, 39].

Grundlegend werden zwei Entladungsmechanismen, die Townsend-Zündung sowie die Streamer-Zündung, unterschieden, welche sich in der Elektronendichte im Lawinenkopf signifikant unterscheiden. Bei der Townsend-Entladung sind charakteristische Kenngrößen geringe Stromstärken im μA -Bereich, sowie geringe Ladungsträgerdichten. Weiterhin kommt es aufgrund der geringen Elektronendichte im Lawinenkopf zu keiner signifikanten Verzerrung des äußeren Feldes durch Raumladungseffekte [40].

Im Gegensatz hierzu steht der klassische Zündmechanismus der DBD, die Streamerentladung, gekennzeichnet durch höhere Ströme und lokale Feldstärkeüberhöhungen. Der Übergang vom Townsend- zum Streamermechanismus erfolgt, wenn im Kopf der sich ausbildenden Elektronenlawine eine kritische Elektronendichte überschritten wird. Es kommt zur Ausbildung einer virtuellen Anode, welche Feldverzerrungen bzw. lokale Feldstärkeüberhöhungen zur Folge hat. Der Durchschlag erfolgt, wenn der Lawinenkopf die äußere Anode erreicht und einen leitfähigen Kanal hinterlässt [40]. Die anschließende Ausbildung des Filamentes ist davon abhängig, welche Elektrode dielektrisch behindert ist. Im Fall eines anodenseitigen Dielektrikums kommt es dort durch eine Ansammlung von Elektronen zu einer Abschirmung des äußeren Feldes, welche die Ausbildung einer homogen erscheinenden Gleitentladung verursacht. Aus der gegenüberliegenden, nicht dielektrisch behinderten Elektrode fließen die Elektronen ungehindert in den leitfähigen Kanal; es kommt zur Ausbildung eines Kathodenfallraumes [38]. Handelt es sich um eine kathodenseitige Barriere, trifft auf diese der positive Streamerkopf, wodurch ein radial nach innen gerichtetes elektrisches Feld entsteht. Dieses verursacht eine sogenannte Lichtenbergfigur, bestehend aus einer Vielzahl kleiner Streamer. Anodenseitig können die Elektronen ungehindert abfließen, es kommt nicht zur Bildung einer Kanalaufweitung in Form eines Fußpunktes [38].

Durch die Flankensteilheit der anregenden Spannungspulse kann Einfluss auf das Zündverhalten und somit auf das Erscheinungsbild der Entladung genommen werden. Es kann eine Abhängigkeit der Durchbruchspannung von der Flankensteilheit gezeigt werden, welche durch das Flächengesetz nach Kind beschrieben wird [38]. Durch einen schnellen Spannungsanstieg wird die Zündfeldstärke signifikant erhöht, bis weit oberhalb der durch das Paschengesetz beschriebenen benötigten Amplitude. Durch die erhöhte Durchbruchspannung erfolgt die Ausbildung nahezu aller Filamente zeitgleich, welche sich gegenseitig durch Feldkräfte stark beeinflussen; die Ausbildung ausgeprägter Fußpunkte wird verringert und eine feinere Filamentstruktur entsteht

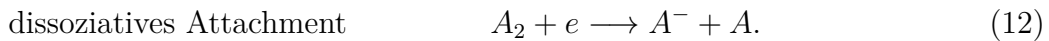
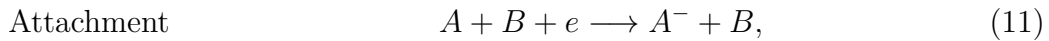
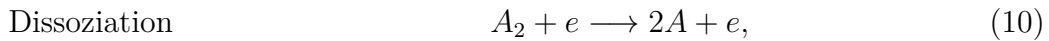
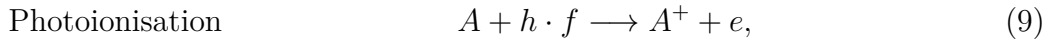
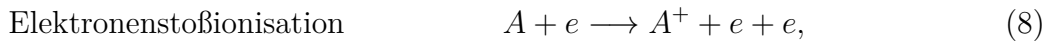
[38].

Extrem schnelle Spannungsanstiege, realisiert durch Pulsdauern im ns-Bereich, erzeugen Plasmen mit einer nahezu homogenen Entladungsstruktur. Hier wird vermutet, dass andere Effekte bei der Zündung der Entladung zum Tragen kommen. Es wird ein innerer Verstärkungseffekt im Entladungsvolumen als möglicher Zündmechanismus propagiert, da die Zeitspanne, welche die weniger beweglichen Ionen zum Überqueren des Entladungsspaltcs benötigen, größer ist als die Zeit, in welcher die erforderliche Zündspannung aufgebaut wird [41]. Ein weiterer möglicher Mechanismus, welcher Einfluss auf das Entladungsbild nimmt, könnte eine flächige Emission von Elektronen aus der Elektrode, verursacht durch die kurze zeitliche Abfolge der Zündmechanismen, sein. In Folge dessen wären nur geringe Feldüberhöhung zu erwarten, welche ein Absinken der reduzierten elektrischen Feldstärke und folglich auch der Elektronenenergie induzieren würden [41].

2.1.4 Plasmachemie

In kalten Luftplasmen wird eine Vielzahl reaktiver Sauerstoff- und Stickstoffspezies generiert. Hierzu zählen u. a. atomarer Sauerstoff, Peroxide, Ozon und Stickoxide. Reaktive Spezies wurden als Hauptmechanismus zahlreicher plasmainduzierter Änderungen auf biologischen Proben identifiziert, wodurch die Kenntnis über Existenz und Konzentration dieser Spezies wesentlich zur Abschätzung der zu erwartenden Wirkungen beiträgt.

Im Plasma werden Radikale, Ionen und angeregte Moleküle durch zahlreiche Prozesse generiert; Elektronen hoher kinetischer Energien stellen die hierfür notwendigen Aktivierungsenergien zur Verfügung. Bei inelastischen Stößen der Elektronen mit schweren Gasteilchen werden verschiedene chemische Reaktionen ausgelöst. So kann eine vibratorische oder elektronische Anregung erfolgen, Ionisations- und Dissoziationsprozesse werden initiiert, auch ein Attachment⁵ ist möglich:

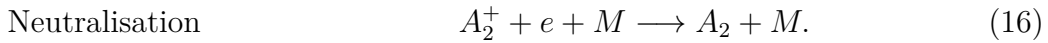
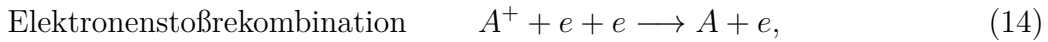


⁵„Attachment“ bezeichnet die Anlagerung eines Elektrons an ein neutrales Molekül oder Atom.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Die dabei entstehenden Teilchen können wiederum durch Folgereaktionen weitere Reaktionsprodukte erzeugen. Im Allgemeinen gilt: Mit steigender Feldstärke nimmt der Anteil an Dissoziations- und Ionisierungsvorgängen zu, die Wahrscheinlichkeit der vibratorischen Anregung sinkt [38, 42].

Darüber hinaus finden auch Abregungs-, Rekombinations- und Neutralisierungsreaktionen statt, welche auf die Anzahl an Plasmaspezies einen verringernden Effekt haben:



Grundsätzlich können durch hohe Elektronendichten hohe Konzentrationen an reaktiven Spezies erzeugt werden [39].

Die Plasmachemie in Luftplasmen wird dominiert durch den in der Luft enthaltenen Sauerstoff und Stickstoff. Die Dissoziation von Sauerstoff kann durch Stöße mit Elektronen ($\sim 6 \text{ eV}$) und angeregten Stickstoffmolekülen sowie durch die Wechselwirkung mit kurzwelliger UV-Strahlung erfolgen [38, 40]. Ein anderer Mechanismus ist das dissoziative Attachment; durch eine Elektronenanlagerung an ein Sauerstoffmolekül dissoziiert dieses anschließend spontan [38]. Für die Spaltung des Stickstoffmoleküls sind aufgrund der vorliegenden Dreifachbindung deutlich höhere Energien im Bereich von 9 eV notwendig. Daraus resultiert, dass bei geringen Elektronentemperaturen hauptsächlich Sauerstoffradikale und somit Ozon gebildet wird. Mit ansteigender Energie steigt auch der Anteil an generierten Stickstoffspezies [38]. Daher spricht man bei Plasmen mit geringen Elektronenenergien auch vom Ozonregime, in hochenergetischen Plasmen vom NO_x -Regime.

Ozon ist ein in kalten Luftplasmen typisches, sehr langlebiges Reaktionsprodukt mit Lebensdauern bis hin zu einigen Minuten. Der dominante Vorgang zur Bildung von Ozon ist ein zweistufiger Prozess, eingeleitet durch die Dissoziation eines Sauerstoffmoleküls. Durch die Folgereaktion eines Sauerstoffatoms mit einem O_2 -Molekül und einem weiteren Stoßpartner entsteht Ozon [37, 43]. In der gegenläufigen Reaktion erfolgt der Abbau des Ozons durch Reaktionen mit Sauerstoffatomen oder durch Elektronenstöße. Durch die Anwesenheit von Wasser, welches in gasförmiger Form als Luftfeuchtigkeit oder als Bestandteil der zu behandelnden Substrate vorliegen kann, entstehen Verbindungen wie OH oder HO_2 , welche auch mit Ozon-Molekülen weiterreagieren. Ein steigender Wassergehalt trägt somit zur Verringerung der Ozonkonzentration bei [39].

Metastabile Stickstoffmoleküle spielen aufgrund ihrer hohen Energie und langen Lebensdauer bei Anregungs- und Ionisierungsvorgängen in Plasmen eine wichtige Rolle. Bei Betrachtung der Lebensdauer muss allerdings bei Anwesenheit von Sauerstoff beachtet werden, dass dieser als effektiver Quencher⁶ die Metastabilen durch Stöße abregt und ihre Lebensdauer somit signifikant verringert. Zu den in Luftplasmen gebildeten Stickoxiden gehören u. a. NO, NO₂, NO₃, N₂O und N₂O₅ mit Lebensdauern im ms-Bereich [37]. Die NO_x-Spezies wirken wiederum maßgeblich der Ozonkonzentration im Plasma entgegen, da diese verglichen mit O₂-Molekülen schneller mit Sauerstoffatomen weiterreagieren. Diese Atome stehen folglich nicht mehr zur Ozongeneration zur Verfügung [39, 43].

Der Beitrag der Spezies zu plasmachemischen Prozessen hängt stark von deren Lebensdauer ab. Elektrisch angeregte Moleküle, welche innerhalb einiger ns durch Rekombination zerfallen und dabei Photonen emittieren, können aufgrund ihrer kurzlebigen Existenz kaum zu chemischen Reaktionen beitragen. Ionen, metastabile Verbindungen und Atome hingegen, welche in einem Zeitbereich von 100 ns bis hin in den ms-Bereich existieren, üben einen signifikanten Einfluss auf die Probenoberflächen aus [39].

2.2 Biologisch wirksame Plasmakomponenten

In der medizinischen Anwendung wirken Plasmen als Mischung biologisch wirksamer Komponenten. Zu diesen Plasmabestandteilen zählen die reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies, der elektrische Strom (elektrische Felder eingeschlossen), die UV-Strahlung sowie die Temperatur. Diese Plasmakomponenten werden als Einzelapplikation bereits seit Jahren für konventionelle Therapien in der Dermatologie eingesetzt. Die Wirkungen dieser Komponenten auf die Haut sind zahlreich, woraus breitgefächerte Anwendungsgebiete entstehen, angefangen bei der Durchblutungssteigerung, über eine verbesserte Wundheilung bis hin zur Anregung der Vitamin-D-Produktion [5, 28, 44, 45]. In einer Plasmaentladung liegen diese Bestandteile zeitgleich vor; ihre Intensitäten bzw. Konzentrationen können nicht vollkommen unabhängig voneinander dimensioniert werden. Daher muss sorgfältig geprüft werden, in wieweit die durch konventionelle Therapien bekannten Wirkungen einzelner Plasmabestandteile auf die durch eine Plasmatherapie hervorgerufenen Effekte übertragen werden können. Mögliche Synergieeffekte wurden bislang nur unzureichend studiert und sind an dieser Stelle nicht auszuschließen.

⁶Quenching bezeichnet den Prozess der strahlungslosen Abregung von Molekülen.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Neben therapeutisch nutzbaren positiven Effekten der Plasmakomponenten sind auch negative Auswirkungen auf den Organismus, hervorgerufen durch zu hohe Dosen, bekannt. Daher wurden von verschiedensten Institutionen, beispielsweise der WHO („*World Health Organisation*“), dem VDI („*Verein deutscher Ingenieure*“) oder dem ICNIRP („*International Commission of Non-Ionizing Radiation Protection*“), genaue Richtlinien und Grenzwerte herausgegeben, um einen gefahrlosen Umgang mit diesen Stoffen zu gewährleisten.

2.2.1 Reaktive Sauerstoffspezies

Zu den in einem Luftplasma generierten reaktiven Sauerstoffspezies, im Folgenden kurz ROS („*reactive oxygen species*“) genannt, gehören unter anderem das Hyperoxid-Anion O_2^- , das Hydroxyl-Radikal $\text{OH}\cdot$, das Peroxylradikal $\text{ROO}\cdot$, Ozon O_3 und Wasserstoffperoxid H_2O_2 , um hier nur einige Vertreter zu nennen [39]. Diese auch als Sauerstoffradikale bezeichneten Verbindungen verursachen oxidativen Stress und werden als Ursache zahlreicher Erkrankungen genannt. Die Wirkung der ROS ist stark dosisabhängig, so können sie sich in hohen Konzentrationen schädlich auf den Zellstoffwechsel auswirken, eine Protein- sowie Lipidoxidation hervorrufen, interzellulär eine Mutation im Erbgut verursachen oder einen programmierten Zelltod (Apoptose) initiieren [28, 46, 47]. Körpereigene ROS entstehen als Nebenprodukt der Zellatmung, d.h. bei zellinternen Stoffwechselprozessen zur Produktion von ATP⁷, sowie in Entzündungsherden des Organismus zur Abwehr von Viren und Bakterien [48].

Neben schädlichen Effekten sind aber auch zahlreiche therapeutische Anwendungen der ROS bekannt. In Studien wurde gezeigt, dass geringe Dosen eine Inaktivierung von Bakterien sowie eine Stimulation des Zellwachstums und der Proliferation verursachen [46, 49]. Die Wirkung der ROS auf den Organismus wird beispielsweise auch in der konventionellen Krebstherapie genutzt. Die Strahlentherapie basiert auf der strahlungsinduzierten Bildung von Hyperoxid, Peroxid und Hydroxygruppen in den Zielzellen und dem dadurch hervorgerufenen Zelltod [46].

Im Folgenden soll explizit auf die medizinische Anwendung von Ozon eingegangen werden, da es sich hierbei um eine relativ stabile Verbindung handelt, welche im Entladungsvolumen eines Luftplasmas in signifikanten Konzentrationen gebildet wird. Die Wirkungsmechanismen wurden bereits hinlänglich untersucht, wodurch Ozon zu zahlreichen therapeutischen Zwecken in der

⁷Adenosintriphosphat: Molekül, welches als Energieträger in Zellen fungiert.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Dermatologie eingesetzt werden kann. Bei Exposition der Haut mit Ozon kann dieses mit den in der Haut befindlichen Antioxidantien (z. B. Vitamin-C und -E) Reaktionen eingehen; die Antioxidantien bilden hierbei einen effektiven Schutz der Haut gegenüber oxidativem Stress [28, 50]. Trotz des körpereigenen Schutzsystems kommt es auch zu einer oxidativen Reaktion mit den in der Haut befindlichen Lipiden. In dem als Ozonolyse bezeichneten Prozess werden ungesättigte C=C-Doppelbindungen oxidiert („*Criegee-Mechanismus*“), wodurch mehr oder weniger flüchtige Primärprodukte entstehen [50]. Für den medizinischen Einsatz ist zu beachten, dass auch weniger flüchtige Substanzen auf die Hautoberfläche gelangen und dort unter Umständen Hautirritationen auslösen. Flüchtige Stoffe können eine Reizung der Atemwege verursachen [28, 50].

Eine konkrete Anwendung der ROS in der Medizin ist die Ozontherapie zur Behandlung von diabetisch bedingten Fußulcera⁸. Im Rahmen einer klinischen Studie, in welcher die Ozontherapie mit der konventionellen Behandlung mittels Antibiotika verglichen wurde, konnte die Wirksamkeit nachgewiesen werden [47]. Der therapeutische Effekt beruht hierbei auf dem Schutz vor oxidativem Stress durch eine Vorkonditionierung und Stimulierung des Antioxidationsystems durch Ozon [47].

Darüber hinaus wird genutzt, dass Ozon als Ozonid in Doppelbindungen in einfach ungesättigten Fettsäuren stabilisiert werden kann. In dieser Form ist es für mehrere Jahre stabil und kann somit zur Behandlung chronisch infizierter kutaner Bereiche und Schleimhäute genutzt werden [28]. Auch die Anwendung von ozonisiertem Öl mit definierten Peroxidanteilen wird aufgrund seiner antiviralen und antifungiziden Wirkung in Wunden sowie zur Behandlung von Hauterkrankungen eingesetzt [28].

2.2.2 Reaktive Stickstoffspezies

Reaktive Stickstoffspezies, kurz RNS („*reaktive nitrogen species*“), haben einen großen Einfluss auf Prozesse in Zellen. Hierzu zählen physiologische Prozesse, welche physikalische und chemische Vorgänge in den Zellen umfassen, sowie pathophysiologische Prozesse, wobei es sich hierbei um die Reaktionen der Zelle auf krankhafte Veränderungen handelt. Allgemein versteht man unter der Einwirkung der RNS auf den Organismus den Begriff des nitrosativen Stresses, analog zu dem Begriff des oxidativen Stresses, der u. a. die Wirkung der reaktiven Sauerstoffspezies beschreibt.

⁸Ulcera bezeichnen Geschwüre, also tiefliegende Substanzdefekte der Haut, welche nicht traumatischen Ursprungs sind.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Zu den wichtigsten Vertretern der RNS in Luftplasmen zählen Stickstoffradikale $N\cdot$, Stickstoffmonoxid NO sowie Distickstoffmonoxid N_2O [39].

Das Stickstoffmonoxid im Besonderen hat dosisabhängig zahlreiche Einflüsse auf den menschlichen Organismus, da es sich um ein hochreaktives Molekül mit guten Diffusionseigenschaften handelt [51]. In hohen Konzentrationen ist NO als wirksames Zellgift bekannt, welches im Speziellen in der Lunge eine toxische Wirkung bei Inhalation entfaltet [52]. Darüber hinaus kann auch eine direkte Schädigung der DNA in Form von Mutationen und Doppelstrangbrüchen erfolgen [53]. Des Weiteren können durch eine NO-Exposition in der Haut entzündliche Prozesse und Erythema initiiert werden. Zudem kommt es zu einem Verlust von Langerhanszellen, Apoptose wird in Keratinozyten induziert und die Ausbildung der Hautbarriere wird durch Veränderungen in funktionellen Gruppen der Proteine gehemmt [51].

Im Körper wird NO durch zahlreiche Zelltypen in der Haut, wie die Keratinozyten, die Langerhanszellen, die Melanozyten sowie die Fibroblasten, gebildet [51, 53]. Neben der endogenen Produktion wird NO auch durch die zweistufige Reduktion des im Schweiß vorhandenen Nitrats gebildet, wobei diese Reaktion über Nitrit als Zwischenprodukt verläuft [54]. Seit vielen Jahren ist bekannt, dass NO eine Schlüsselfunktion in der Antwort der Haut auf Stimulation durch z. B. Temperatur, UV-Strahlung, Infektionen oder Wunden spielt [51]. NO als sogenanntes Messenger-Molekül in der interzellularen Kommunikation beeinflusst in dieser Rolle u. a. die Vasodilatation⁹ oder die Reizweiterleitung durch biochemische Botenstoffe [53]. Durch eine UV-Exposition oder entzündliche Störungen der Haut, wie sie bei *atopischer Dermatitis*, *Psoriasis* oder allergisch bedingter *Dermatitis* auftreten, wird die NO-Generation der Haut angeregt, wobei hierdurch u. a. Schutzmechanismen in den Zellen aktiviert werden, woraus eine erhöhte Resistenz der Zellen gegenüber ROS und Apoptose resultiert [51]. Darüber hinaus wurde eine Steigerung der dermalen Mikrozirkulation anhand der Parameter Blutfluss¹⁰ und -geschwindigkeit sowie auf Basis der Hämoglobin-¹¹ und Sauerstoffsättigung des Blutes durch Stickstoffmonoxid gezeigt [5].

In der medizinischen Anwendung kommen zur Therapie von Bluthochdruck die gefäßerweiternden Eigenschaften des Stickstoffmonoxids zum Einsatz, darüber hinaus kann durch die Inhalation geringer NO-Dosen eine verbesserte Sauerstoffsättigung bei Patienten z. B. mit akuter Pneumonie erreicht werden [52]. Durch die Modulation der NO-Generation in der Haut sind weitere medizinische Anwendungen denkbar: So kann NO als Antagonist der krankhaft

⁹Bezeichnet die Ausdehnung bzw. Erweiterung von Blutgefäßen

¹⁰Der Blutfluss definiert das pro Zeiteinheit durch einen bestimmten Querschnitt transportierte Volumen.

¹¹Bezeichnung für den roten Blutfarbstoff

2 PLASMATECHNOLOGIE

gesteigerten mitotischen Proliferation, wie sie bei Psoriasispatienten auftritt, eingesetzt werden, oder aber die positiven Auswirkungen auf die Wundheilung durch antimikrobielle Effekte genutzt werden [51, 53]. Darüber hinaus konnten durch die Hemmung der NO-Synthese positive Effekte bei Migränapatienten und chronischen Entzündungsbildern erreicht werden [53].

2.2.3 Elektrischer Strom

Die medizinische Anwendung einer DBD zur direkten Behandlung resultiert in einem Stromfluss durch die als Gegenelektrode fungierenden biologischen Substrate (siehe Abb. 3), welcher aufgrund der Selbstauslöschung der Entladung auf einen kurzen Zeitraum begrenzt ist. Typische Spitzenwerte für den Strom liegen im Bereich von einigen 100 mA bis hin zu einigen Ampere bei Nutzung sehr kurzer Pulsdauern. Damit einhergehen signifikante elektrische Felder, welche sich auf der Oberfläche und in interzellulären Strukturen aufbauen und einen Wert von bis zu 100 kV cm^{-1} annehmen können [55].

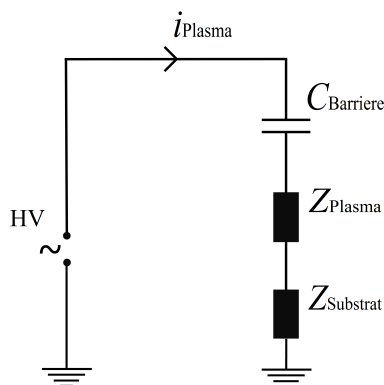


Abbildung 3: Einfaches elektrisches Ersatzschaltbild für die Zündung einer DBD mit C_{Barriere} - Kapazität des Dielektrikums, Z_{Plasma} - Impedanz des Plasmas, Z_{Substrat} - Impedanz der Gegenelektrode und i_{Plasma} - Entladungsstrom.

Der Begriff der Elektrotherapie beschreibt die Applikation von Gleich- und Wechselstrom am Menschen zur Behandlung verschiedener Erkrankungen. Diese Therapie wird angewendet für die Stimulation erkrankter Nerven, die Steigerung der Durchblutung, die lokale Sensibilisierung für Chemotherapeutika, die Behandlung krankhaft starker Schweißbildung (Hyperhidrose) bis hin zu der Kauterisation in der Hochfrequenz-Chirurgie [44, 55].

2 PLASMATECHNOLOGIE

Eine weitere wichtige Anwendung in der Dermatologie stellt die Iontophorese dar, mit welcher sogenannte „*Drug-Delivery Systems*“ realisiert werden. Hierbei wird ein kontinuierlicher Gleichstrom auf der Haut von bis zu 170 mA verwendet, um eine verbesserte Resorption von Wirkstoffen zu erreichen [56]. An dieser Stelle wird zum einen der Effekt genutzt, dass über eine elektrische Ladung verfügbare Arzneimittel mit den anliegenden Feldern interagieren und somit durch die Haut in den Organismus transportiert werden. Zum anderen wird die Elektroporation genutzt, welche strukturelle Veränderungen der Zellmembran durch die Bildung von Poren umfasst. Hierbei verursacht das an den Zellen anliegende elektrische Feld eine Ansammlung von Ladungsträgern auf der dielektrisch wirkenden Zellmembran, wodurch ein Spannungsabfall über dieser entsteht [55]. Bezug nehmend auf die anliegenden elektrischen Feldstärken sowie die Einwirkdauer kann eine Zerstörungsschwelle der Zellen definiert werden, oberhalb welcher Apoptose initiiert wird und eine Hemmung des Zellwachstums erfolgt. Diese Effekte werden in der Behandlung von Krebstumoren eingesetzt [55].

2.2.4 UV-Strahlung

Das Emissionsspektrum eines Luftplasmas wird dominiert durch den Einfluss des Stickstoffs; es sind zahlreiche Banden im UVA-Bereich (320 - 400 nm) sowie geringere Intensitäten im Bereich des UVB (280 - 320 nm) zu erwarten (siehe Abb. 14). Gesundheitsgefährdende UVC-Strahlung (200 - 280 nm) wird im Plasmavolumen effektiv von Ozon-Molekülen absorbiert und gelangt somit nicht in signifikanten Dosen in die Substratebene [57]. Es ist allerdings zu beachten, dass die emittierten Wellenlängen von Anregungsart und Ausführungsform der Entladung abhängen, wodurch biologisch relevante Intensitäten im UVC bis hin zum VUV (100 - 200 nm) generiert werden können [58]. Die Wirkung der UV-Strahlung hängt wesentlich von deren Wellenlänge sowie der eingebrachten Dosis ab, wobei sowohl positive als auch negative Auswirkungen auf die Haut bekannt sind [59].

Die langwellige UVA-Strahlung ist essentiell für die Vitamin-D-Synthese, die kurzwelligere UVB-Strahlung beeinflusst die Biosynthese der Haut und zeigt eine anti-inflammatorische Wirkung [45, 48]. Es werden Proteine freigesetzt, die die Differenzierung und das Wachstum der Zellen steuern sowie Enzyme aktivieren, welche sich auf den Kollagengehalt der Haut auswirken [60].

Negative Auswirkungen der UV-Strahlung entstehen durch zu lange Expositionszeiten oder durch zu hohe Intensitäten, woraus hohe Strahlungsdosen resultieren. Bei Wechselwirkungen der UV-Strahlung auf molekularer Ebene werden direkte sowie indirekte Effekte unterschieden. Direkte Effekte beru-

hen auf der Absorption der Photonen durch zentrale Moleküle, wodurch Änderungen in der DNA hervorgerufen werden [57]. Als indirekter Effekt wird die Freisetzung interzellulärer reaktiver Spezies verstanden, welche einen oxidativen Abbau von Lipiden und Proteinen sowie eine oxidative Zerstörung der DNA hervorrufen [48]. In Lipiden werden unter anderem Brüche in Kohlenstoffketten, eine Hydrogenierung von ungesättigten Komponenten sowie eine Bildung oxidierten Gruppen speziell an ungesättigten Lipiden verursacht [61]. Eine dauerhafte und intensive UV-Exposition führt daher zu einem Strukturverlust in der Haut, welcher sich in einer beschleunigten Hautalterung und Faltenbildung manifestiert. Darüber hinaus resultieren durch eine UV-induzierte Schädigung der Haut Sonnenbrand, Immunsuppression¹² sowie das gesteigerte Risiko einer Hautkrebserkrankung [57, 62].

Die positiven Effekte der UV-Strahlung werden im Rahmen der sogenannten Phototherapie eingesetzt, wodurch Erkrankungen der Haut wie *Psoriasis* und atopische Ekzeme, aber auch Bindegewebserkrankungen nicht-invasiv behandelt werden können [60, 63]. Hierbei werden UVA- als auch UVB-Strahlung verwendet; der Einsatz breitbandiger Emissionsquellen wurde in den letzten Jahren durch die vermehrte Anwendung schmalbandiger Strahler abgelöst [63]. Die Phototherapie ermöglicht eine großflächige Behandlung betroffener Hautareale, eine narbenlose Abheilung kann häufig innerhalb weniger Wochen erreicht werden. Die verwendeten UVB-Dosen liegen in einem Bereich von $0,1$ bis 5 J cm^{-2} , für UVA-Strahlung werden bis zu 50 J cm^{-2} appliziert, in Abhängigkeit des jeweils vorliegenden Hauttyps [45, 64].

2.2.5 Temperatur

Eine Plasmabehandlung resultiert in einer geringen Erwärmung der behandelten Substrate, wobei der Hauptenergieeintrag aus der Wechselwirkung mit warmen Gasteilchen resultiert; ein geringer Effekt ist durch den Mechanismus der jouleschen Wärme des Entladungsstromes zu erwarten. Die Wirkung im Gewebe ist abhängig von der sich einstellenden Temperatur und kann von stimulierend bis hin zu irreversiblen Schäden reichen. Temperaturen bis zu 40°C sind innerhalb der biologischen Toleranzschwelle, oberhalb werden degenerative Prozesse induziert [29]. Temperaturen in einem Bereich von 37 - $38,5^\circ\text{C}$ stimulieren die Proliferation und das Keratinozytenwachstum, Wundheilungsprozesse werden gefördert [65]. Eine Hyperthermie, welche eine Veränderung in der Zellmembran und Molekülstruktur bezeichnet, wird verursacht von einem Temperaturbereich von 40 bis 50°C . Die Veränderun-

¹²Bezeichnet die Unterdrückung immunologischer (vom Immunsystem ausgehender) Prozesse

2 PLASMATECHNOLOGIE

gen in der Zellmembran führen zu einer Poration im ms-Bereich, welche für eine verbesserte Wirkstoffaufnahme in den Organismus genutzt werden kann [66]. Oberhalb von 50°C entstehen Protein- und Kollagendenaturierungen, die Zellflüssigkeit verdunstet und irreversible Schäden im Gewebe resultieren [67].

2.3 Plasmen in der Medizin

Eine der ersten Anwendungen von Plasmen in der Medizin umfasst den Einsatz heißer Plasmen zur Koagulation¹³ [49, 68]. Durch die Entwicklung kalter Plasmen bei Atmosphärendruck, deren Gastemperaturen nur einige Grad über der Raumtemperatur liegen, wurde die Behandlung temperatursensitiver biologischer Substrate ermöglicht. Hierfür finden derzeit verschiedene Quellenkonzepte Anwendung, mit welchen direkte, indirekte aber auch interkorpuläre Behandlungen realisiert werden können. Dieser Abschnitt der Arbeit umfasst den Stand der Forschung und Technik hinsichtlich der eingesetzten Plasmaquellen sowie der bislang erschlossenen Anwendungsfelder. Aufgrund der zahlreichen vorliegenden Prinzip- und klinischen Studien wird hier der Schwerpunkt auf den Einsatz in der Dermatologie gelegt.

2.3.1 Anwendungsfelder

Antimikrobielle Wirkung:

Ein Forschungsschwerpunkt der Plasmamedizin sind die Sterilisation und Stimulation von Gewebe und Oberflächen [48, 68, 69]. Für die Sterilisation kommt die antimikrobielle Wirkung der Plasmen, welche unabhängig von Bakterienart und Resistenzlevel gezeigt wurde, zum Tragen. In zahlreichen Studien konnten neben der sehr effektiven Abtötung von Bakterien, fungizide Effekte, sowie eine antimikrobielle Wirkung auf Hefen beobachtet werden [70, 71, 72, 73, 74, 75]. Diese Studien umfassen Erreger wie u. a. den *Staphylococcus aureus*, den *Staphylococcus epidermidis*, den *Pseudomonas aeruginosa*, die *Escherichia coli* sowie den *Candida albicans*. Eine Reduktion der bakteriellen Last um mehr als eine log-Stufe¹⁴ kann bereits durch eine Plasmabehandlung von wenigen Sekunden Dauer erreicht werden [76]. Als möglicher Inaktivierungsmechanismus wird die schädliche Einwirkung von ROS und RNS auf die Zellmembran sowie auf die DNA vermutet [67, 76].

¹³Fachbegriff für die Gerinnung von Blut oder Lymphe

¹⁴Die Keimreduktion wird in der Biologie in log-Stufen angegeben; die Reduktion um eine log-Stufe entspricht einer Reduktion um 90 %.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Ein weiterer Effekt der Bakterieninaktivierung wird unter dem Begriff des elektrischen Stresses geführt. Darunter wird eine plasmainduzierte Aufladung der Bakterien verstanden, welche zu Brüchen innerhalb dieser führen kann [66].

Ein großer Vorteil der Plasmatechnologie ist die selektive Wirkung der Plasmaspezies, wodurch eine Inaktivierung der Mikroorganismen ohne Beschädigung gesunder Nachbarzellen ermöglicht wird. Dieser Effekt liegt in der höheren Toleranz gesunder Zellen - verglichen mit Mikroorganismen - gegenüber dem schädigenden Effekt der Plasmabehandlung begründet [68, 69].

Zur weiteren Klärung möglicher Wirkmechanismen wurden die biologisch wirksamen Komponenten eines Plasmas während der Behandlung separiert, wofür die Zündung des Plasmas auf einem elektrisch leitfähigen Netz kurz oberhalb der Substratebene erfolgte. Dadurch gelangen nur langlebige Spezies, z. B. Ozon sowie die UV-Strahlung des Plasmas auf die Probenoberfläche, welche alleine einen schwächeren antimikrobiellen Effekt zeigen [73]. In einer weiteren Studie wurden die im Plasma generierte UV-Strahlung sowie die Gesamtheit an reaktiven Spezies als Wirkkomponente separiert. Auch hier wurden, verglichen mit einer kompletten Plasmabehandlung, abgeschwächte antimikrobielle Effekte beobachtet [77]. Synergieeffekte wie die photochemische Wechselwirkung der reaktiven Spezies mit UV-Photonen mit einer einhergehenden gesteigerten Toxizität des Partikelmixes werden vermutet [77]. Allgemein werden durch eine Plasmabehandlung elektromechanische, thermische und chemische Prozesse in Zellen initiiert, welche wesentlichen Einfluss auf die Zellwanddurchlässigkeit haben. Bei einer direkten Plasmabehandlung mit Feldstärken oberhalb von 30 kV cm^{-2} tritt der Effekt der Elektroporation auf [55]. Auch Temperaturen um 40°C , wie sie während einer Plasmabehandlung auftreten können, verursachen eine Poration der Zelle im ms-Bereich [66]. Des Weiteren ist eine gesteigerte Durchlässigkeit der Mikroporen eine Folge der plasmainduzierten OH-Denaturierung in den Membranen. In Folge dessen wird ein erleichtertes Eindringen der ROS und RNS in die Zellen ermöglicht, woraus eine direkte Wechselwirkung mit der DNA resultiert [66]. Bei direkter Plasmabehandlung nackter DNA wurden signifikante Anteile an Einzelstrangbrüchen, und mit steigender Dosis Doppelstrangbrüche bis hin zur kompletten Fragmentierung der DNA beobachtet [77].

Stimulation der Wundheilung:

Chronische Wunden gehen meist mit einer hohen bakteriellen Last einher, die eine Abheilung der betroffenen Stellen über Jahre hinweg verhindert. Die Therapie dieser Krankheitsbilder stellt eine große Herausforderung in der Dermatologie dar.

2 PLASMATECHNOLOGIE

Zur Klärung der Anwendbarkeit kalter Plasmen auf diese Krankheitsbilder wurden plasmabasierte klinische Studien an venösen Ulcera durchgeführt. Eine signifikante flächenmäßige Reduktion der Hautdefekte konnte durch kalte Plasmen in Kombination mit der klassischen Wundversorgung erreicht werden [78, 79]. In darüber hinausgehenden klinischen Untersuchungen wurden chronisch infizierte Wunden verschiedenen Ursprungs behandelt. Auch hier wurde eine Stimulation der Heilung sowie eine Reduktion der bakteriellen Last beobachtet [6, 80].

Die Behandlung chronischer Wunden basiert auf der Kombination verschiedener plasmainduzierter Effekte, als da sind

- i) die Stimulation des Gewebes, welche eine Steigerung der Durchblutung sowie eine Anregung der Proliferation endothelialer Zellen verursacht, auch lange nach der Plasmabehandlung [5, 46],
- ii) die starke antimikrobielle Wirkung, die zu einer Reduktion der Bakterienlast in der Wunde führt [6], und
- iii) der über Stunden anhaltende ansäuernde Effekt in der Wunde [7].

Das saure Milieu resultiert aus der Bildung von Salpetersäure durch die Reaktion von RNS mit dem in der Haut/Wunde enthaltenen Wasser. Gesunde Haut zeigt einen sauren pH-Wert, in Wunden hingegen ist der pH-Wert meist in den basischen Bereich verschoben, welcher ein Bakterienwachstum begünstigt und somit die Wundheilung hemmt [7].

Neben der Behandlung chronischer Wunden wurde auch eine erfolgreiche Plasmatherapie an einem atopischen Ekzem gezeigt [81]. Mit dieser Erkrankung gehen eine Rötung und Schwellung der Haut sowie ein Juckreiz der betroffenen Stellen einher [23]. Nach einer 30-tägigen Plasmatherapie konnte eine Linderung der Symptome beobachtet werden. Darüber hinaus wurde eine Reduktion der bakteriellen Last gezeigt, validiert anhand des *Staphylococcus aureus* [81]. Die desinfizierende Wirkung ist für die Abheilung des Ekzems von wesentlicher Bedeutung, da die betroffenen Hautareale eine krankheitsbedingte Störung der Hautbarriere aufweisen, welche ein Eindringen von Mikroorganismen begünstigt [23]. Darüber hinaus zeigt Plasma eine hemmende Wirkung auf die durch eindringende Mikroorganismen verursachten inflammatorischen Prozesse [48]. Unerwünschte Nebeneffekte wurden bislang nicht beobachtet [81]. Bei weiteren Erkrankungen der Haut wie *Ichthyosen* oder *Psoriasis*, welche auch mit Störungen in der Hautbarriere einhergehen, ist daher eine Übertragung der positiven therapeutischen Wirkung kalter Plasmen denkbar.

Insbesondere der antibakterielle Effekt der Plasmatherapie weist bei der Behandlung multiresistenter Keime einen entscheidenden Vorteil gegenüber konventionellen Therapien mittels Antibiotika auf: In der Behandlung bakterieller Infektionen sind die dramatisch steigenden Resistenzen gegenüber Antibiotika, hervorgerufen durch Mutationen der Bakterien-DNA, ein wachsendes Problem. Anhand von vier Generationen gezüchteter Bakterien sowie durch Verwendung bereits resistenter Formen wurde die natürliche und erworbene Resistenz von Bakterien gegenüber einer Plasmabehandlung untersucht. Als Resultat konnte keine Form der Resistenzbildung nachgewiesen werden [66].

Weitere Anwendungsfelder:

Eine weitere große Herausforderung des deutschen Gesundheitssystems stellt die Krebstherapie dar. Die konventionelle Behandlung basiert auf drei Eckpfeilern: der chirurgischen Entfernung der Tumore, der Chemotherapie und der Bestrahlung. Diese Therapieform ist allerdings für Betroffene mit erheblichen Nebenwirkungen und Einschränkungen im alltäglichen Leben verbunden. Eine Alternative bietet auch hier die Behandlung mittels kalter Plasmen, wobei der Mechanismus der plasmainduzierten Apoptose in Tumoren genutzt wird [46, 82]. Durch hohe Plasmadosen kann ein sofortiger Zelltod durch Nekrose hervorgerufen werden; bei geringeren Behandlungszeiten tritt keine unmittelbare Schädigung auf, der Zelltod tritt innerhalb der nächsten Stunden ein [3, 82]. Die in der Krebstherapie verwendeten Plasmadosen liegen unterhalb des Schwellenwertes, ab welchem gesundes Gewebe eine Schädigung erfährt, wodurch auch hier eine selektive Wirkung genutzt werden kann [68]. Die Einwirkung der im Plasma enthaltenen ROS auf das Zellgewebe wurden für die induzierte Apoptose als Hauptmechanismus identifiziert [46]. Durch geringe Plasmadosen in Kombination mit kurzen Behandlungszeiten kann ein weiterer Effekt, die Hemmung der Zellproliferation in Krebszellen, hervorgerufen werden [74]. Auch in der Therapie von Leukämiepatienten konnten bereits erste Erfolge aufgezeigt werden [83].

Weitere Anwendungsgebiete sind die Dentalmedizin, in der Plasmen zur Entfernung von Kariesbakterien verwendet werden [84], oder die Chirurgie, welche den Einfluss einer direkten Plasmaentladung auf die Blutgerinnung sowie die Blutviskosität nutzt [49, 68, 85]. In der Krankenhaushygiene werden die antimikrobiellen Eigenschaften zur Sterilisation von metallischem und aus Kunststoff gefertigtem chirurgischem Equipment genutzt [86]. Durch eine Plasma-Oberflächenbehandlung kann in der Implantatmedizin eine antimikrobielle Funktionalisierung der Implantate erreicht werden, wodurch eine Verringerung inflammatorischer Reaktionen des Körpers erhofft wird [87]. Der Effekt der Poration, welcher bereits als wichtiger Wirkmechanismus für

2 PLASMATECHNOLOGIE

u. a. die antimikrobielle Wirkung vorgestellt wurde, wird auch zur Wirkstoffverabreichung eingesetzt. Hierbei wird eine verbesserte Wirkstoffaufnahme in Zellen durch die plasmainduzierte Poration der Zellwände untersucht [55]. Darüber hinaus werden Plasmen in der Kosmetik nutzbringend eingesetzt, eine erste Anwendung war die Behandlungen von Fingernägeln [88]. Des Weiteren kann eine hautpflegende Wirkung erreicht werden; es kommt zu einer Förderung der Hauterneuerung und Kollagenproduktion. Patienten berichten von einer Verbesserung der Hauttextur durch Faltenreduktion und einer Verbesserung des Teints [89].

2.3.2 Medizinische Plasmaquellen

Volumen-DBD:

Das in der vorliegenden Arbeit vorgestellte Quellenkonzept der Volumen-DBD wird für eine direkte Plasmatherapie angewendet. Dabei bildet das zu behandelnde Substrat die Gegenelektrode, sodass die Gesamtheit der biologisch wirksamen Plasmakomponenten die Probenoberfläche erreicht. Das Prinzip der Elektrodengeometrie ist schematisch in Abb. 4 dargestellt. Dieses Konzept wird bereits als Medizinprodukt in Form der PlasmaDerm® (Cinogy GmbH, Duderstadt, Deutschland) vertrieben und erfolgreich in klinischen Studien eingesetzt [78, 79].

Die Volumen-DBD ist im besonderen Maße für großflächige Behandlungen geeignet, wobei die Herausforderung in der Realisierung einer homogenen Behandlung zu sehen ist. Biologische Substrate weisen von Natur aus Inhomogenitäten in der Oberflächenstruktur auf, woraus Schwankungen in den Zündabständen resultieren. Erhebungen auf der Substratoberfläche führen zu Inhomogenitäten in der Entladung durch die Begünstigung ortsfester Filamente. Um diesem Effekt entgegen zu wirken, finden DBD mit Pulslängen im ns-Bereich Anwendung, wobei deren stabiles Zündverhalten über einen weiten Bereich des Elektrodenabstandes genutzt wird [90]. Die kurzen Anstiegszeiten der Hochspannungspulse im Bereich mehrerer kV ns^{-1} vermeiden die Ausbildung von Streamern, ein quasihomogenes Erscheinungsbild der Entladung entsteht [90, 91]. Außerdem wurde gezeigt, dass Bakterien durch die Verwendung von ns-Pulsen effektiver als bei der Verwendung von μs -Pulsen abgetötet werden können. Im Detail können die mit einer μs -DBD erzeugten Effekte mittels ns-Quelle bei signifikant geringeren Leistungsdichten erreicht werden [75, 90]. Darüber hinaus können ns-Plasmen Bakterien in Bereichen über die Elektrodengeometrie hinausgehend sowie in Vertiefungen effektiv deaktivieren, wohingegen dieser Effekt mit Pulsdauern im μs -Bereich nicht erreicht werden konnte [73].

2 PLASMATECHNOLOGIE

Zusammenfassend bieten ns-Pulse im dermatologischen Einsatz folgende Vorteile:

- i) Unebene Oberflächen können in gewissen Grenzen behandelt werden, da keine konstanten Zündabstände notwendig sind [90],
- ii) Mikroorganismen können auch in Vertiefungen, also unabhängig von der Oberflächentopographie, inaktiviert werden [73] und
- iii) durch die Vermeidung von Filamenten wird eine homogene Behandlung der Haut ermöglicht und hohe lokale Aufheizungen werden verhindert [90, 91].

Jet:

Neben den in dieser Arbeit verwendeten Volumen-DBD ist eine weitere in der Dermatologie etablierte Möglichkeit der Plasmenerzeugung der sogenannten Plasmajet [74, 92]. Hierbei wird ein Plasma mittels Hochfrequenzentladung erzeugt; durch die Nutzung eines Gasstromes werden die Plasmaspezies aus dem Gasspalt auf das Substrat herausgeblasen. Der so entstehende Jet ermöglicht hierdurch eine potenzialfreie indirekte Behandlung der Proben [4, 29]. Der Vorteil dieser Technik ist die Möglichkeit von punktuellen Behandlungen auch in komplexen Oberflächenstrukturen. Nachteilig bei dieser Technik ist der im Vergleich zur Volumen-DBD größere apparative Aufwand durch benötigte Prozessgase und Gaszuführungen. Ein weiterer Unterschied zur Volumen-DBD ergibt sich bei Betrachtung der emittierten Wellenlängen, in mit Argon oder Helium betriebenen Jet-Systemen konnte bereits die gesundheitschädliche UVC und VUV Strahlung nachgewiesen werden [58, 93, 94, 95].

Auch dieses Quellenkonzept des Plasmajets wurde bereits durch die Entwicklung des kINPen® MED (INP Greifswald und neoplas tools GmbH, Greifswald, Deutschland) für den medizinischen Einsatz umgesetzt [67, 78]. Durch die indirekte Behandlung entsteht kein Stromfluss durch die Probe; es kommt nicht zu einer Wechselwirkung mit den im Plasmavolumen enthaltenen hochenergetischen Elektronen. ROS und RNS werden durch den Volumenstrom auf die Substrate transportiert, woraus auch bei dieser Behandlungsweise u. a. eine effektive antimikrobiellen Wirkung entsteht [67, 70, 78, 80].

Gepulste Plasma-Streamer:

Ein weiteres Einsatzgebiet der DBD ist die Erzeugung von gepulsten Plasma-Streamern bei Atmosphärendruck („*pulsed atmospheric plasma streams*“, kurz PAPS), welche sich mit hoher Geschwindigkeit in Kapillaren ausbreiten [96]. Der Kopf der PAPS wird als Plasmabullet bezeichnet; in flexiblen

2 PLASMATECHNOLOGIE

Schläuchen ist ein Transport durch einen Helium- oder Neongasstrom über Längen von einigen 100 cm möglich, wodurch neue Anwendungsfelder erschlossen werden können [96, 97]. PAPS werden durch Pulse im ns-Bereich erzeugt; für die Ausbreitung spielt das Verhältnis von Schlauchdurchmesser zur Länge sowie die entstehende Ionisationswelle eine entscheidende Rolle [97]. Durch die räumliche Distanz zwischen erzeugender Hochspannung und zu behandelndem Objekt wirkt auf dieses keine hohe Potenzialdifferenz. Auch weitere risikobeherbende Faktoren wie UV-Strahlung und Temperatur wurden untersucht und in den biologisch tolerierbaren Bereich eingeordnet [98]. In der medizinischen Anwendung ist diese Art der Plasmenerzeugung von besonderem Interesse für die Behandlung komplexer Organe [96], so wurde beispielsweise mittels Intubation durch die Luftröhre das Plasma in die Lunge von Mäusen eingebracht [46]. Darüber hinaus ist eine Integration der in Schläuchen geführten PAPS in endoskopische Anwendungen denkbar [99].

Plasmabasierte Medizinprodukte:

Neben den bereits vorgestellten Konzepten der PlasmaDerm[®] und des kINPen[®] MEDs existieren weitere als Medizinprodukt CE-zertifizierte Plasmageräte, welche sich bereits im Einsatz befinden [100]. Folgend eine exemplarische Auflistung einiger Produkte:

- i) MicroPlaSter (ADTEC Healthcare, Hounslow, England),
- ii) Plasma-Patch (COLDPLASMATECH, Greifswald, Deutschland),
- iii) BioWeld1TMSystem (IonMed Ltd., Misgav, Israel) sowie
- iv) Plasma ONE (Plasma MEDICAL SYSTEMS GmbH, Bad Ems, Deutschland).

Risikobewertung:

Generell ist für die Etablierung neuer medizinischer Plasmaquellen die Abschätzung von Risikofaktoren entscheidend für die Definition minimaler Standards. Hierfür wurden spezifisch ungünstige oder toxische Nebeneffekte in den näheren Zell- und Gewebeumgebungen beleuchtet [67]. Die Einhaltung sicherheitsrelevanter Parameter konnte belegt werden, unter der Voraussetzung der Einhaltung definierter Behandlungsparameter [43, 67, 101, 102]. Hierbei wurden u. a. Ozon und Stickstoffmonoxid durch Konzentrationsmessungen evaluiert, woraus minimal einzuhaltende Abstände zu den Atemwegsorganen resultieren [43, 71, 102]. Es wurde eine Beurteilung der emittierten Wellenlängen im UV-Bereich durchgeführt, durch radiometrische Messungen wurden Strahlungsintensitäten in diesem Bereich detektiert und die daraus

2 PLASMATECHNOLOGIE

entstehende mögliche Gefährdung der Haut validiert [43, 71]. Darüber hinaus wurden die umgesetzte Leistung und der resultierende Stromfluss direkter Plasmabehandlungen diskutiert, es werden keine schädlichen Wirkungen erwartet [71].

Ein weiterer Aspekt der Sicherheitsbewertung ist die Untersuchung schädlicher plasmainduzierter Effekte direkt an Zellen durch die Bewertung von Mutationen und Brüchen in der Zell-DNA [77, 102, 103]. Es ist jedoch zu beachten, dass die hier vorgestellten Quellenkonzepte für eine Sicherheitsevaluation getrennt zu betrachten sind. Ein einheitliches Konzept für die Bewertung medizinischer Plasmaquellen steht derzeit noch nicht zur Verfügung.

3 Charakterisierung der Plasmaquellen

In diesem Abschnitt werden die drei angewendeten Plasmaquellen hinsichtlich ihrer Eingangsparameter sowie der resultierenden Plasmakomponenten vorgestellt. Dabei wurden die verwendeten Plasmen durch Pulse im μs - und ns-Bereich angeregt. Die Charakteristiken der anregenden Hochspannungspulse wurden so gewählt, sodass durch einen Vergleich zweier μs -Entladungen (im Folgenden als μs -Plasma I und II bezeichnet) Rückschlüsse auf den Einfluss der anregenden Hochspannung bzw. der umgesetzten Leistung auf die Plasmaparameter gezogen werden können. Die Verwendung der verschiedenen Pulsdauern erlaubt die Auswirkung dieser auf die entstehenden Plasmakomponenten zu evaluieren.

Die in diesem Kapitel präsentierte Charakterisierung der Plasmen umfasst eine optische Beurteilung der Entladungscharakteristik sowie die Berechnung der im Gasspalt umgesetzten Leistung durch die Aufnahme zeitlich aufgelöster Strom-Spannungskennlinien. Die generierte UV-Strahlung wird in Bezug auf die emittierten Wellenlängen sowie die Bestrahlungsstärke analysiert. Durch Anwendung der hochauflösenden optischen Emissionsspektroskopie, kurz OES, wurden Elektronen-, Vibrations- und Rotationstemperaturen in der Entladung bestimmt. Darüber hinaus wurden durch Nutzung der Absorptionsspektroskopie die Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentrationen im Entladungsspalt analysiert.

Basierend auf diesen gewonnenen Daten wird im Anschluss eine Diskussion der Plasmen hinsichtlich ihrer Eignung für den dermatologischen Einsatz geführt. Die Bewertung möglicher Risiken und daraus resultierender Einschränkungen werden darüberhinaus vorgestellt.

3.1 Entladungsbild

Die genutzte Elektrodengeometrie umfasst eine dielektrisch behinderte, zylinderförmige Kupferelektrode mit einem Durchmesser von 8 mm, welche durch eine Al_2O_3 -Keramik ummantelt ist. Die Wandstärke der Keramik beträgt 1 mm, wodurch sich ein Gesamtdurchmesser von 10 mm für die Elektrode ergibt. Als geerdete Gegenelektrode werden die mittels Stripping-Methode (siehe Kap. 4.1) hergestellten Lipidproben verwendet. Der Elektrodenabstand wird konstant auf einem Wert von 1 mm gehalten (siehe Abb. 4). Für alle Plasmaanwendungen wurde eine konstante Behandlungszeit von 1 min gewählt. Die Zündung der Entladung erfolgt in Umgebungsluft unter Normalbedingungen ($p = 0,1 \text{ MPa}$, $T = 25^\circ\text{C}$).

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

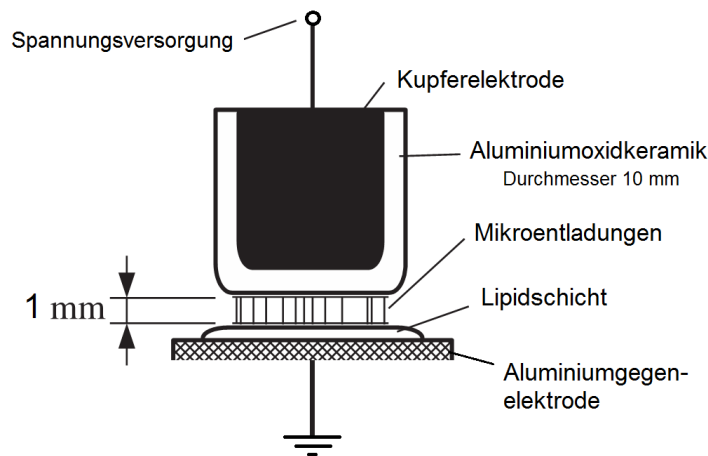


Abbildung 4: Schematische Darstellung der Elektrodengeometrie; Lipidstripingsubstrat als Gegenelektrode, nach [8].

Für eine optische Beurteilung der Entladung, wodurch Rückschlüsse auf den Grad der Filamentierung gezogen werden können, wird eine Spiegelreflexkamera EOS 300D (Canon, Inc., Tokio, Japan) mit einem Objektiv (Canon EF-S 18-55 mm 1:3,5-5,6 IS) genutzt.

In den Abb. 5-7 sind Aufnahmen der Entladungen der drei verwendeten Plasmen gegenübergestellt. Für eine gute Vergleichbarkeit wurde mit einer konstanten Belichtungszeit sowie einer konstanten ISO-Zahl gearbeitet. Es zeigt sich das für DBD, gezündet in Luft bei Atmosphärendruck, typische filamentierte (μs -Anregung) bis quasihomogene (ns-Anregung) Erscheinungsbild, wobei sich ortsfeste Filamente auf Erhöhungen in der Substratebene ausbilden (siehe Abb. 5) [73]. Generell zeigen die hier untersuchten μs -Plasmen im Vergleich zum ns-Plasma einen stärkeren Grad der Filamentierung. Dieser Effekt ist in der Literatur bekannt und wurde bereits durch Ayan et al. gezeigt, der durch die Betrachtung einzelner Pulse einen Vergleich hinsichtlich der Ausbildung von Filamenten anstellte [90]. Der Effekt wird unter anderem auf den Einfluss der Eigenfrequenz der Pulse sowie auf die Flankensteilheit der Hochspannung zurückgeführt [33, 90].

Neben der Dauer der anregenden Pulse ist die Homogenität der Entladung auch abhängig von der verwendeten Spannungsamplitude [33]. Größere Amplituden führen zu einer Verdichtung der Filamente im Entladungsspalt. Dieser Effekt bestätigt sich im Vergleich der beiden μs -Entladungen (Abb. 6 und 7) wobei die μs -Entladung II mit ihrer höheren Spannungsamplitude auch eine höhere Dichte an Filamenten zeigt.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

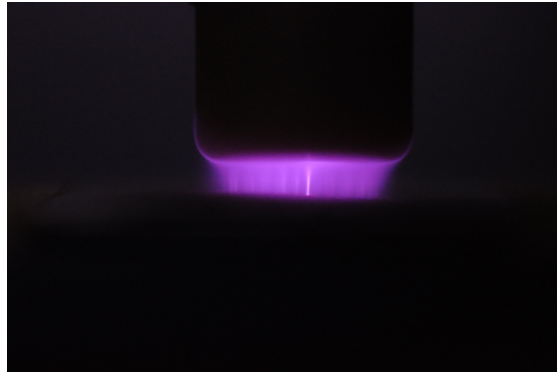


Abbildung 5: Seitenansicht der ns-Entladung (Pulsdauer 200 ns, max. Spannungsamplitude 11,7 kV); Ausbildung eines quasihomogenen Plasmas.

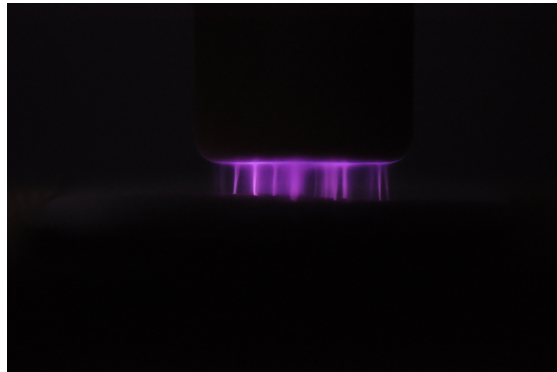


Abbildung 6: Seitenansicht der μ s-Entladung I (Pulsdauer 70 μ s, max. Spannungsamplitude 7,5 kV); Ausbildung eines stark filamentierten Plasmas.

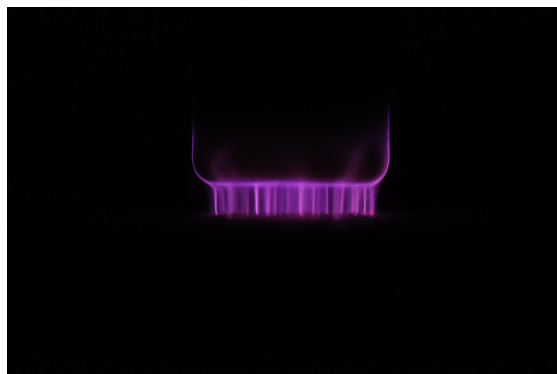


Abbildung 7: Seitenansicht der μ s-Entladung II (Pulsdauer 70 μ s, max. Spannungsamplitude 11,6 kV); Ausbildung eines fein filamentierten Plasmas.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

3.2 Leistungsbestimmung

Zur Bestimmung der in einer Entladung umgesetzten Leistung stehen verschiedene Methodiken zur Verfügung. Neben einer theoretischen Berechnung nach Manley [36] bietet die Lissajous-Methode eine weitere Möglichkeit der Leistungsbestimmung [38]. Hier wird der Ladungstransport in der Entladung anhand einer in Reihe zur Entladung geschalteten Messkapazität betrachtet. Der eingeschlossene Flächeninhalt der entstehenden Lissajousfigur zwischen anregender Spannung und Spannungsabfall über der Messkapazität ist hierbei proportional zur pro Periode umgesetzten Energie [38].

Eine weitere alternative Herangehensweise stellt die UI-Methode dar, welche in dieser Arbeit Anwendung findet. Die im Entladungsspalt umgesetzte Energie wird über das Produkt aus Spannung und Strom berechnet; unter Einbeziehung der Pulswiederholfrequenz kann die Leistung bestimmt werden [33, 41]. Die Berechnung erfolgt durch nachstehende Formel:

$$P = f_{\text{pw}} \int_0^{1/f_{\text{pw}}} u_{\text{Gas}}(t) \cdot i_{\text{Plasma}}(t) dt, \quad (17)$$

wobei f_{pw} die Pulswiederholfrequenz, U_{Gas} den Spannungsabfall über dem Gasspalt und i_{Plasma} den Entladungsstrom bezeichnet. Der Spannungsabfall über dem Gasspalt kann durch Anwendung des kapazitiven Spannungsteilers aus der Gesamtspannung des anregenden Pulses ermittelt werden. Für die Erfassung der zeitlich aufgelösten Hochspannungspulse wurde ein Hochspannungstastkopf P6015A (Tektronix, Inc., Beaverton, USA) verwendet, der Entladungsstrom wurde mit Hilfe einer Stromzange Modell 2877 (Pearson Electronics Inc., Palo Alto, USA) in Reihe zur Entladung bestimmt. Die resultierenden Strom-Spannungs-Charakteristiken für die μs - und ns -Quelle sind in den Abb. 8-9 dargestellt, wobei die voneinander abweichende Skalierung der Zeit-Achsen zu beachten ist. Exemplarisch wurde der Spannungsverlauf der μs -Quelle I abgebildet, welcher im Verlauf der Charakteristik der μs -Quelle II entspricht (hier nicht gezeigt).

Oberflächenladungen auf der dielektrischen Barriere sowie Differenzen in den Kabellängen der verwendeten Messtechnik können eine Phasenverschiebung zwischen Entladungsstrom und Spannungsverlauf bewirken. Diese wurden im Vorfeld der Leistungsberechnung korrigiert. In Tabelle 1 sind die wesentlichen Kenngrößen der genutzten Hochspannungspulse dargestellt. Die μs -Plasmen I und II weisen vergleichbare Kenndaten auf, lediglich in der anregenden Spannungsamplitude wurden Änderungen vorgenommen, woraus sich Unterschiede in der umgesetzten Leistung sowie im Entladungsstrom ergeben.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

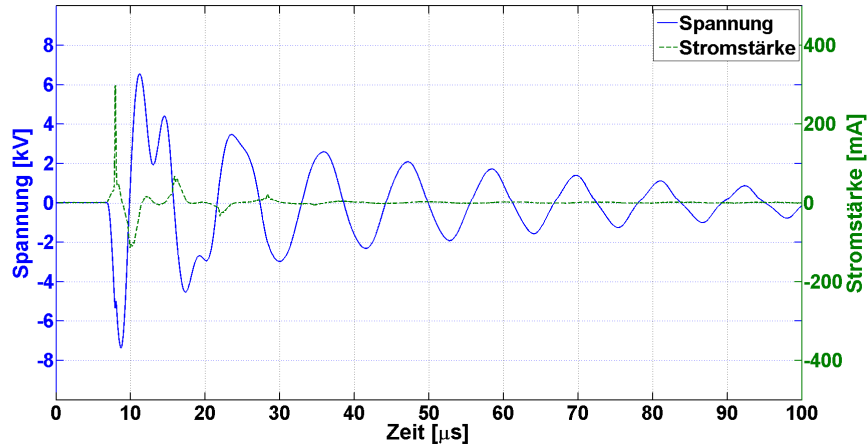


Abbildung 8: Strom-Spannungskennlinie der μs -Quelle I.

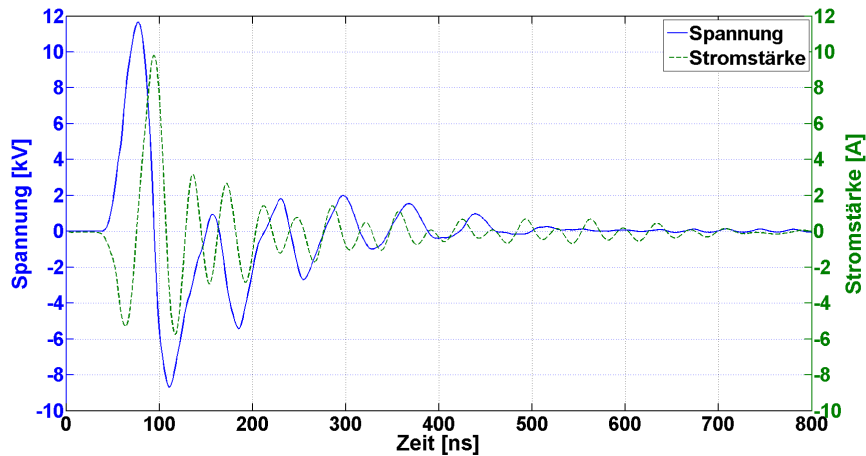


Abbildung 9: Strom-Spannungskennlinie der ns-Quelle.

Der Vergleich der beiden μs -Quellen erlaubt es somit Rückschlüsse auf den Einfluss der Spannungsamplitude bzw. des Entladungsstroms auf die entstehenden Plasmaparameter zu ziehen. Für die ns-Quelle wurden die Kenngrößen auf die der μs -Quelle II angepasst (vergleichbare Pulswiederholfrequenz, Spannungsamplitude und umgesetzte Leistung), wodurch der Einfluss der Pulsdauer und der daraus resultierende signifikant höhere Entladungsstrom auf die Eigenschaften der Entladung evaluiert werden kann.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Tabelle 1: Elektrische Parameter der verwendeten Plasmaquellen.

	μs -Quelle I	μs -Quelle II	ns-Plasma
max. Spannungsamplitude [kV]	7,5	11,6	11,7
max. Entladungsstrom [A]	0,3	0,8	9,6
Pulswiederholfrequenz [Hz]	300	300	300
Pulsdauer ¹⁵	70 μs	70 μs	200 ns
Leistung [mW]	200	710	720
Leistungsdichte ¹⁶ [mW/mm ²]	4	14,2	14,4

Im Rahmen einer direkten Plasmabehandlung ergibt sich ein elektrischer Stromfluss durch den menschlichen Körper, da dieser als geerdete Gegenelektrode fungiert. Mit steigender Frequenz nimmt die potenzielle Gefährdung für den Menschen ab, daher kann der Grenzwert für den Menschen nur in Abhängigkeit von der verwendeten Frequenz angegeben werden. Für eine Beurteilung möglicher Gefahrenpotenziale können die bei der Iontophorese eingesetzten Stromstärken herangezogen werden. Hierbei werden Stromstärken im Bereich von bis zu 170 mA verwendet, welche als unbedenklich für den Menschen eingeordnet werden [56]. Die vorgestellten Plasmaquellen weisen Spitzenwerte in der Stromstärke auf, welche deutlich oberhalb dieses Wertes liegen. Auch die zu medizinischen Zwecken eingesetzte PlasmaDerm[®] weist Spitzenwerte in der Stromstärke von ca. 400 mA auf [78]. Es ist allerdings zu beachten, dass diese Stromstärken durch die gepulste Anregung nur über sehr kurze Zeitintervalle fließen, wodurch keine thermische Schädigung der biologischen Proben zu erwarten ist. Bei Betrachtung einer Periodendauer kann die mittlere Stromstärke der Entladungen berechnet werden, welche maximal einen Wert von 40 mA im Fall der ns-Anregung erreicht. Daher können die vorgestellten Plasmaquellen, obwohl die maximalen Entladungsströme die bei der Iontophorese genutzten Stromstärken signifikant übersteigen, als geeignet für den dermatologischen Einsatz eingestuft werden.

3.3 Temperaturmessungen

Bei einem Übergang der im Plasmavolumen vorhandenen, angeregten Spezies in niedrigere Energieniveaus werden Photonen emittiert. Diese Strahlung weist eine für die Rotations-, Vibrations- und Elektronentemperatur der Entladung charakteristische Wellenlängenverteilung auf [104, 105]. Zur

¹⁵Pulslänge definiert über den Abfall der Spannungsamplitude auf den 1/e-ten Teil

¹⁶Ausgehend von einem Entladungsdurchmesser von 8 mm

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Bestimmung der Temperaturverteilungen wird die Strahlung mittels Emissionsspektroskopie spektral hoch aufgelöst detektiert und anschließend analysiert. Der Vorteil der Methodik der optischen Emissionsspektroskopie ist, dass keine Sonde in das Plasma eingebracht wird, sie ist somit noninvasiv und es kommt zu keiner Beeinflussung der Entladung [104].

In dieser Arbeit wurde ein Echelle-Spektrometer Aryelle-Butterfly 400 (LTB Lasertechnik Berlin GmbH, Berlin, Deutschland) verwendet, welches durch die Anwendung der namensgebenden Echellegitter die detektierte Strahlung in zwei Raumrichtungen beugt, wodurch eine Auflösung von < 80 pm erreicht werden kann. Im Vorfeld der Messungen wurde eine Wellenlängenkalibrierung mittels einer Quecksilberdampfampe DH 2000 (Ocean Optics, Inc., Dunedin, USA) zur Vermeidung einer Wellenlängenverschiebung durchgeführt, sowie eine relative Intensitätskalibrierung durch Verwendung einer Halogenlampe DH 2000 (Ocean Optics, Inc., Dunedin, USA) realisiert. Durch die geringe Lichtemission der Entladungen wurden Belichtungszeiten von bis zu 30 min benötigt. Für die Fokussierung der emittierten Strahlung auf die Stirnfläche der optischen Faser (siehe Abb. 10) kam eine Quarzglaslinse der Brennweite 50 mm zum Einsatz. Der Transmissionsverlauf der Linse wurde im betrachteten Wellenlängenbereich bestimmt und bei der Analyse der Spektren berücksichtigt. Auf Grund des verwendeten Messsystems sowie der langen Belichtungszeiten entsprechen die im Folgenden angegebenen Messwerte räumlich und zeitlich gemittelten Temperaturen.

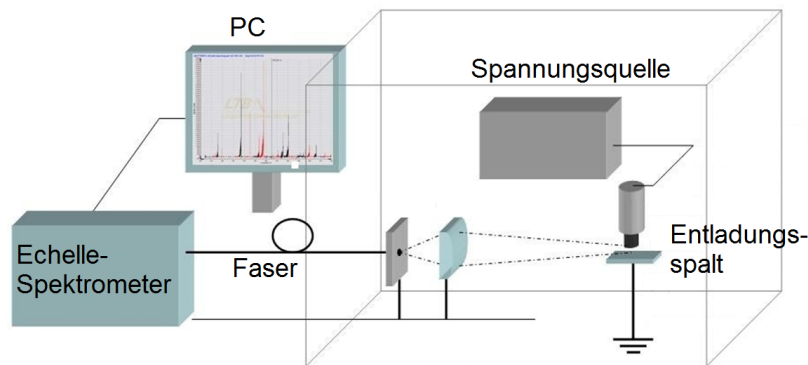


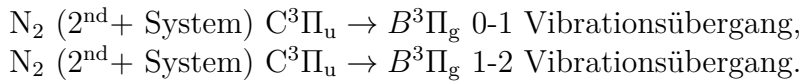
Abbildung 10: Setup der optischen Emissionsspektroskopie, nach [8].

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

3.3.1 Gas-, Rotations- und Vibrationstemperatur

Die Bestimmung der Gastemperatur in einer Entladung ist für den medizinischen Einsatz unerlässlich, da diese der von dem Patienten während der Behandlung gefühlten Temperatur entspricht. In Atmosphärendruck kann die Gastemperatur näherungsweise durch die Rotationstemperatur beschrieben werden. Diese Näherung gilt, da die Abstände der einzelnen Rotationsniveaus gering sind und durch die kurzen freien Weglängen im Plasma ein schneller Energieaustausch resultiert. Daher kann von einem Gleichgewicht zwischen angeregten Rotationsniveaus und Gastemperatur ausgegangen werden [106]. Für die Berechnung der Rotationstemperatur werden die Rotationsbanden des 0-0 Vibrationsübergangs des zweiten positiven Systems ($2^{\text{nd}}+$) des Stickstoffs bei 337 nm betrachtet [104, 105]. Hierbei erfolgt die Temperaturberechnung durch einen Vergleich der gemessenen mit simulierten Spektren. Zur Erstellung der Emissionsspektren wurde die Software SpecAir angewendet. Diese Software erlaubt die Simulation von Nichtgleichgewichtsplasmen [107].

Für die Modellierung experimenteller Spektren werden die simulierten Spektren mit der Spaltfunktion des Spektrometers gefaltet. Diese wird näherungsweise durch eine trapezförmige Funktion beschrieben, welche über die Längen der parallelen Trapezseiten definiert wurde (0,064 nm / 0,008 nm). Darüber hinaus müssen die von SpecAir verwendeten Eingangsparameter Elektronen-, Vibrations- und Translationstemperatur, die spektrale Auflösung sowie die emittierenden Spezies angegeben werden. Die Translationstemperatur kann näherungsweise durch die Rotationstemperatur beschrieben werden [107]. Die Vibrationstemperatur wurde im Vorfeld durch den Vergleich der Intensitäten zweier Vibrationsbanden in gemessenen und simulierten Spektren bestimmt. Hierfür wurden folgende Übergänge verwendet:



Diese Übergänge wurden aufgrund ihrer hohen Intensität und ihrer spektralen Lage gewählt. In Abb. 11 sind die betrachteten Vibrationsübergänge in Form eines gemessenen und eines simulierten Spektrums dargestellt. Die Bestimmung des besten Fits wurde mit Hilfe einer MATLAB Routine durchgeführt. Die resultierenden Vibrationstemperaturen der drei verwendeten Plasmaquellen sind in Tabelle 2 dargestellt.

Die zur Bestimmung der Gastemperatur genutzten Rotationsbanden des 0-0 Vibrationsübergangs bei 337 nm sind in Abb. 12 dargestellt. Durch Betrachtung

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

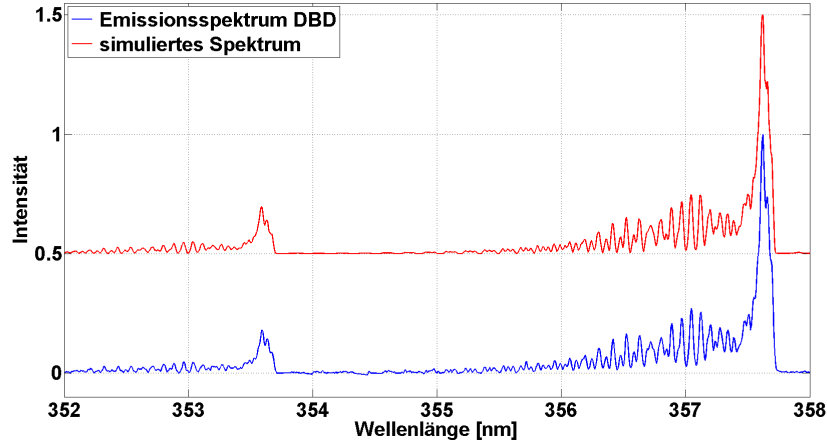


Abbildung 11: Vibrationstemperaturbestimmung aus dem 0-1 und 1-2 Vibrationsübergang des zweiten positiven Systems des N_2 .

tung der Banden in einem Wellenlängenbereich von 334-337 nm wird eine aus der Temperaturverteilung resultierende mittlere Temperatur berechnet. Zur Ermittlung maximaler Temperaturen werden die Rotationsbanden hoher Ordnung betrachtet; diese sind im Spektrum zu geringeren Wellenlängen hin in einem Bereich von 334-335,5 nm lokalisiert. Für die Bestimmung des besten Fits wurde nach der Methode der kleinsten Quadrate vorgegangen, welche durch eine Matlabroutine realisiert wurde. Die berechneten Temperaturen sind in Tabelle 2 zusammengefasst. Die in der Literatur angegebene Genauigkeit dieser Herangehensweise liegt für die Bestimmung der Vibrationstemperatur bei ± 50 K, für die Rotationstemperatur bei ± 40 K [105].

Tabelle 2: Vibrations- sowie mittlere und maximale Gastemperaturen der Entladungen ermittelt durch OES.

	μ s-Quelle I	μ s-Quelle II	ns-Plasma
Vibrationstemperatur [K]	2350	2300	2200
mittlere Gastemperatur [K]	330	330	300
max. Gastemperatur [K]	375	430	330

Bei einem Vergleich der zwei Entladungsmodi der μ s-Plasmen zeigen sich bei Betrachtung der mittleren Gastemperaturen keine Abweichungen. Im Hinblick auf die maximalen Gastemperaturen weist die μ s-Quelle II einen sig-

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

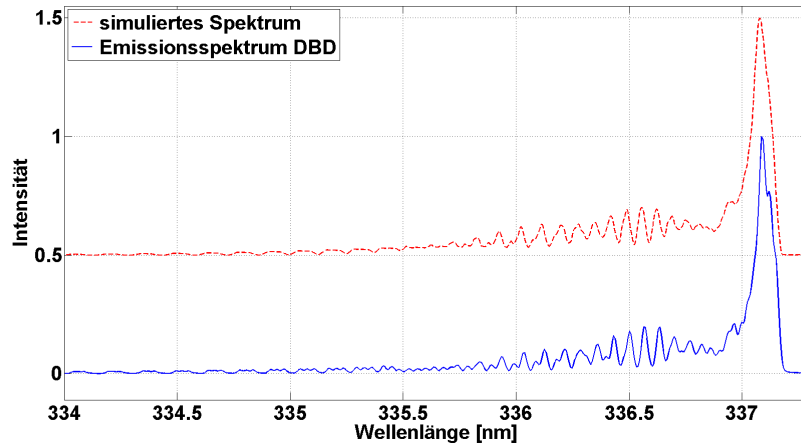


Abbildung 12: Rotationstemperaturberechnung aus dem 0-0 Vibrationsübergang bei 337 nm. Für eine verbesserte Übersicht wurde ein Intensitätsshift von 0,5 eingefügt.

nifikant höheren Wert auf. Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen da aufgrund der höheren umgesetzten Leistung von einer stärkeren Aufheizung der Entladung auszugehen ist. Die im Fall der ns-Quelle ermittelten, geringen Gastemperaturen zeigen eine gute Übereinstimmung mit den von Ayan et al. im Fall von ns-angeregten Plasmen angegebenen Temperaturen von ~ 315 K [90].

Die berechneten, maximalen Gastemperaturen treten in der Entladung nur zeitlich und lokal begrenzt innerhalb der sich ausbildenden Filamente auf [8]. Daher zeigen diese geringen Einfluss auf die Erwärmung der Substrate. Die ermittelten mittleren Gastemperaturen von 27 - 57°C können unter Beachtung der Messunsicherheit nicht abschließend hinsichtlich einer möglichen schädlichen thermischen Wirkung beurteilt werden. In verschiedenen Studien, in welchen die Erwärmung der Haut/Hautmodelle durch Behandlungen mit vergleichbaren DBD untersucht wurde, wurden lediglich geringe Temperaturanstiege im Bereich weniger Grad Celsius beobachtet [10, 69, 71]. Daher wird an dieser Stelle von keiner thermischen Schädigung der Substrate ausgegangen. Um diese Hypothese zu bestätigen sind im Kap. 4.3 weiterführende Studien zur resultierenden Probenerwärmung mittels IR-Kamera durchgeführt worden.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

3.3.2 Elektronentemperatur

Die Berechnung der Elektronentemperatur aus einem Emissionsspektrum kann sowohl aus einer Bande, unter der Voraussetzung eines absolut intensitätskalibrierten Spektrums, als auch aus dem Intensitätsverhältnis zweier Banden erfolgen, wobei letztere an dieser Stelle angewendet wurde [104]. In Nichtgleichgewichtsplasmen wird allerdings nicht die kinetische Energie der Elektronen, sondern die Verteilung der betrachteten angeregten Zustände, welche die Anregungsenergie widerspiegelt, berechnet. Die Elektronentemperatur kann, aufgrund der schnellen Angleichung der Besetzungszustände an die Elektronenenergie, näherungsweise durch diese Anregungstemperatur beschrieben werden [39].

Die Bestimmung der Elektronentemperatur erfolgt durch die Entwicklung eines theoretischen Modells, welches den Zusammenhang der emittierten Übergangsintensitäten des molekularen Stickstoffs mit der reduzierten elektrischen Feldstärke E/n_{Gas} und somit mit der Elektronentemperatur widerspiegelt. Die genutzte Methode wurde von Paris et al. präsentiert [34]. Die Intensität des zweiten positiven Systems des N_2 ($\text{C}^3\Pi_u \rightarrow \text{B}^3\Pi_u + h\nu_{337\text{ nm}}$) 0-0 Vibrationsübergangs wird hierbei in das Verhältnis mit der Intensität des ersten negativen Systems des N_2^+ ($\text{B}^2\Sigma_u^+ \rightarrow \text{X}^2\Sigma_g^+ + h\nu_{391\text{ nm}}$) 0-0 Vibrationsübergangs gesetzt. Das theoretische Verhältnis R dieser beiden Intensitäten ist gegeben durch

$$R_{\frac{391}{337}} = \frac{I_{391}}{I_{337}} = \frac{\lambda_{337}}{\lambda_{391}} \cdot \frac{g_{391}}{g_{337}} \cdot \frac{k_{\text{em},391}}{k_{\text{em},337}}, \quad (18)$$

wobei g den g-Faktor für strahlungslose Verluste und k den Ratenkoeffizienten für Emission beschreibt. Die Wellenlängen sowie die g-Faktoren können in dem gewählten Modell durch Konstanten beschrieben werden; die Abhängigkeit von der reduzierten elektrischen Feldstärke ist durch die Ratenkoeffizienten gegeben. Die Berechnung der g-Faktoren, welche die Abregung angeregter N_2 -Moleküle durch Quenching und assoziatives Attachment berücksichtigen, erfolgt nach Pancheshnyi [108]. Die nachfolgende Gleichung ist geeignet zur Berechnung der g-Faktoren partiell filamentierter Entladungen bei Atmosphärendruck:

$$g_\lambda = \frac{1}{1 + \tau_0 [n_{\text{N}_2} k_{\text{q},\text{N}_2} + n_{\text{O}_2} k_{\text{q},\text{O}_2} n_{\text{Gas}}(T) + k_{\text{conv}} n_{\text{N}_2} n_{\text{Gas}}^2(T)]}. \quad (19)$$

Die genutzten Ratenkoeffizienten k_{q,N_2} , k_{q,O_2} und k_{conv} stehen für Abregung durch Stöße mit N_2 - und O_2 -Molekülen sowie für assoziatives Attachment. In Tabelle 3 sind die für die Berechnung verwendeten Größen aufgeführt.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Tabelle 3: Daten für die Berechnung der g-Faktoren [8, 109, 110].

	337,1 nm	391,4 nm
Strahlungslebensdauer τ_0 [ns]	42	62
Ratenkoeffizient k_{q,N_2} [$10^{-10}\text{cm}^3\text{s}^{-1}$]	0,13	2,1
Ratenkoeffizient k_{q,O_2} [$10^{-10}\text{cm}^3\text{s}^{-1}$]	3,0	5,1
Ratenkoeffizient k_{conv} [$10^{-29}\text{cm}^6\text{s}^{-1}$]	-	5
Relative N_2 Konzentration		0,78
Relative O_2 Konzentration		0,21
Temperatur T [K]		298
Druck p [Pa]		101 325
Gasteilchendichte n_{Gas} [10^{19}cm^3]		2,4615
g-Faktor g	0,013 052 44	0,000 532 05

Die Ratenkoeffizienten für Emission k_{em} resultieren aus einer Faltung des Wechselwirkungsquerschnitts $\sigma(\epsilon)$ mit der EEDF $F(\epsilon)$:

$$k_{\text{em}}(\epsilon) = \sqrt{\frac{2}{m_e}} \int_0^\infty \sqrt{\epsilon} \sigma(\epsilon) F(\epsilon) d(\epsilon), \quad (20)$$

wobei m_e die Elektronenmasse und ϵ die Elektronenenergie bezeichnet; die Wirkungsquerschnitte wurden [111] entnommen. Für die numerische Lösung des angegebenen Integrals wurde die Software Bolsig⁺ (Version 06/2013) angewendet, welche die numerische Lösung der Boltzmannverteilung für schwach ionisierte Gase ermöglicht [112, 113]. Die Berechnung erfolgte für diskrete Werte für E/n_{Gas} in einem Bereich von 100 bis 1400 Td. Durch die Bestimmung des Intensitätskoeffizienten R für diskrete Werte von E/n_{Gas} und einem anschließenden Fit kann eine stetige Funktion $f = R(E/n_{\text{Gas}})$ gewonnen werden, welche der Abschätzung der reduzierten elektrischen Feldstärken für beliebige gemessene Intensitätsverhältnisse dient. Die mittleren Elektronentemperaturen sowie die dazugehörigen reduzierten elektrischen Feldstärken sind in Tabelle 4 aufgeführt, die dazugehörigen EEDF sind in Abb. 13 dargestellt.

Die signifikant höheren Elektronentemperaturen und Feldstärken der μs -Quellen im Vergleich zur ns-Quelle können durch die verschiedenen beobachteten Zündmechanismen der Entladungen erklärt werden. Während Pulsdauern im ns-Bereich ein quasihomogenes Erscheinungsbild zeigen, führen Pulsdauern im μs -Bereich zu einer filamentierten Zündung mit einhergehenden Bereichen überhöhter Feldstärke. Diese Bereiche weisen eine überdurch-

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Tabelle 4: Mittlere Elektronentemperaturen in [K] und [eV] sowie reduzierte elektrische Feldstärken der verwendeten Entladungsarten.

	μs -Quelle I	μs -Quelle II	ns-Plasma
Red. elektr. Feldstärke [Td]	520	620	410
mittlere Elektronentemperatur [K]	$8,4 \cdot 10^4$	$8,5 \cdot 10^4$	$6,3 \cdot 10^4$
mittlere Elektronenenergie [eV]	10,9	11	8,3

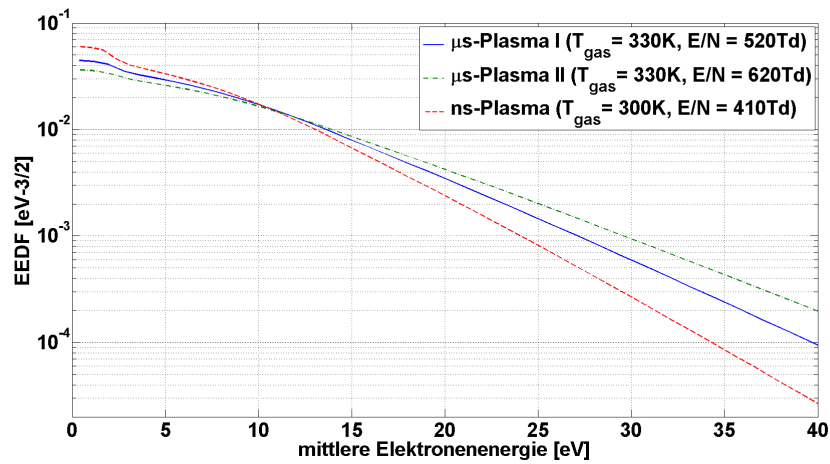


Abbildung 13: Elektronenenergieverteilungsfunktion im Bereich von 0 - 40 eV der verwendeten Plasmen.

schnittliche Lichtemission auf, wodurch die erhöhten Feldstärken das Spektrum dominieren. Folglich weisen die resultierenden Ergebnisse eine Tendenz zu höheren Werten auf.

3.4 UV-Emission

Die Emissionsspektren von Luftplasmen werden dominiert durch den Einfluss der Stickstoffs. Das charakteristische Leuchten im blaviolettten Bereich beruht auf elektronisch angeregten N_2 -Molekülen. Hierbei sind intensive Banden im Bereich des UVA sowie schwächere Banden im Bereich des UVB zu finden. Die als gesundheitsschädlich eingeordnete UVC-Strahlung konnte nicht detektiert werden. Ein typisches Emissionsspektrum ist in der nachfolgenden Abb. 14 dargestellt.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

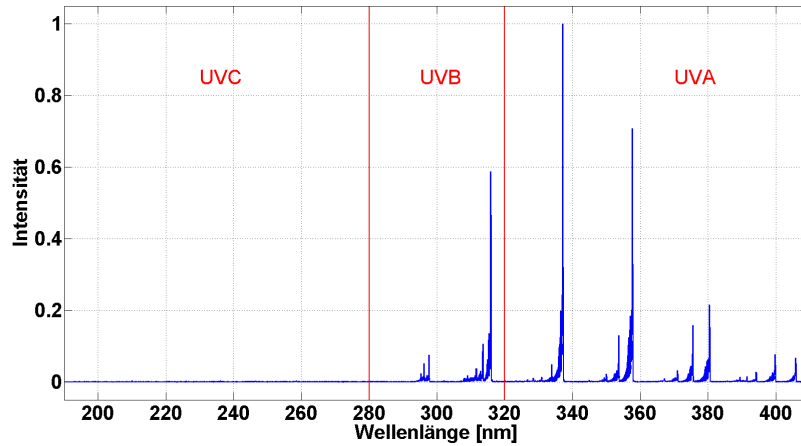


Abbildung 14: Emissionsspektrum eines Luftplasmas bei Atmosphärendruck - hier μ s-Quelle I - im UV-Bereich (200 - 400 nm).

Für die Bewertung der UV-Emission wurden neben den abgestrahlten Wellenlängen auch die Bestrahlungsstärke evaluiert, welche die abgegebene Leistung/Fläche beschreibt. In Abb. 15 ist der hierfür verwendete Versuchsaufbau dargestellt. Verwendet wird eine transparente Gegenelektrode, welche durch ein mit ITO¹⁷-beschichtetes Quarzglas realisiert wurde. Hierdurch wurde eine hohe Transparenz der Elektrode im UV-Bereich erreicht. Unmittelbar hinter der Gegenelektrode, mittig unterhalb der Entladungszone wurde ein Detektorkopf UV-3719-4a(z) mit dazugehörigem Radiometer X1-1 (Gigaherz-Optik, Tuerkenfeld, Deutschland) positioniert. Das Radiometer detektiert einen Wellenlängenbereich von 250 nm bis 400 nm, die aktive Fläche des Detektors weist einen Durchmesser von 15 mm auf [114].

Die mittels Radiometer erfassten Messwerte entsprechen der absoluten Bestrahlungsstärke I_{abs} der Plasmen, vermindert um den in der Gegenelektrode absorbierten Teil der Strahlung. Um diese Abweichung zu berücksichtigen, wurde mit Hilfe eines Spektralphotometers Lambda 650 (Perkin Elmer GmbH, Rodgau, Deutschland) die Transmission der mit ITO-beschichteten Elektrode $T(\lambda)$ als Funktion der betrachteten Wellenlänge erfasst.

¹⁷ITO („Indium Tin Oxide“) bezeichnet einen Halbleiter, welcher im sichtbaren und ultravioletten Spektralbereich gute Transmissionseigenschaften aufweist.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

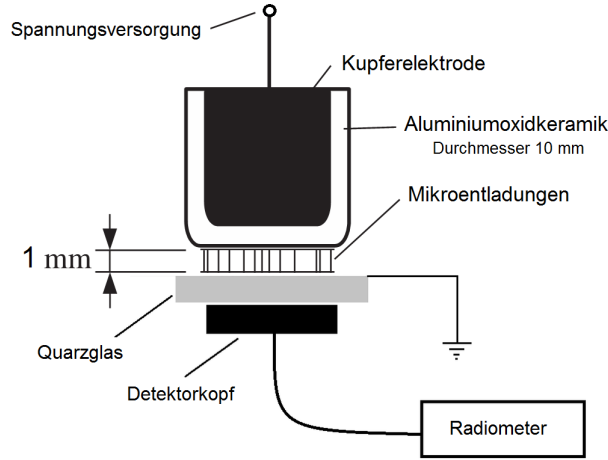


Abbildung 15: Versuchsaufbau zur Bestimmung der Bestrahlungsstärke, nach [11].

Die spektral aufgelöste Intensitätsverteilung der Entladung kann nun berechnet werden durch

$$I(\lambda) = E(\lambda) \cdot \frac{I_{\text{abs}}}{\int_{250 \text{ nm}}^{400 \text{ nm}} E(\lambda) \cdot T(\lambda) d\lambda}, \quad (21)$$

wobei $E(\lambda)$ das Emissionsspektrum des Plasmas bezeichnet. Basierend auf den Vorgaben der ICNIRP („*International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection*“), welche Richtwerte bezüglich maximal erlaubter Strahlungsdosen pro Tag vorgeben, können nicht zu überschreitende Expositionszeiten t_{max} für die Behandlung der Haut errechnet werden. Hierfür wurde die effektive Strahlungsintensität I_{eff} durch Verwendung eines spektralen Gewichtungsfaktors $S(\lambda)$ berechnet, welcher die wellenlängenabhängige Wirkung elektromagnetischer Strahlung auf der Haut beschreibt [59]:

$$I_{\text{eff}} = \int_{200 \text{ nm}}^{400 \text{ nm}} I(\lambda) \cdot S(\lambda) d\lambda. \quad (22)$$

In Abb.16 sind die resultierenden absoluten und effektiven Bestrahlungsstärken dargestellt. Es wurden signifikante Unterschiede detektiert, wobei die ns-Quelle die stärkste Emission aufweist. Im Vergleich der beiden μs -Entladungen zeigt die Quelle II höhere Bestrahlungsstärken. Dieses Ergebnis entspricht, aufgrund der höheren umgesetzten Leistung in diesem Plasma,

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

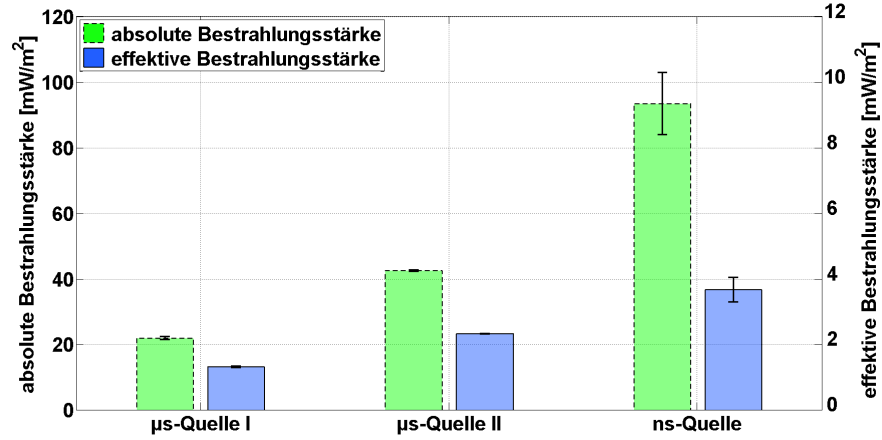


Abbildung 16: Absolute und effektive Bestrahlungsstärke der verwendeten Entladungen.

den Erwartungen. Unter Einbeziehung der durch das ICNIRP angegebenen maximal zulässigen Strahlungs dosis $D_{\max} = 30 \text{ J/m}^2$ werden die maximalen Expositionszeiten berechnet:

$$t_{\max} = \frac{D_{\max}}{I_{\text{eff}}}. \quad (23)$$

Der verwendete Grenzwert basiert auf der Annahme des empfindlichsten Hauttyps I. In Abb. 17 sind die für die Plasmaquellen ermittelten maximalen Expositionszeiten dargestellt. Die Grenzwerte liegen in einem Bereich von maximal 2 h für die ns-Quelle bis hin zu 6 h für die μs-Quelle I. Diese Ergebnisse zeigen eine gute Übereinstimmung mit bereits durchgeführten Untersuchungen an vergleichbaren DBD [43].

In plasmabasierten klinischen Studien wurden therapeutisch wirksame Applikationszeiten im Bereich weniger Minuten ermittelt [6, 79, 80]. Daher ist hinsichtlich der Bestrahlungsstärke keine Einschränkung der hier eingesetzten Plasmaquellen für den dermatologischen Einsatz notwendig; eine Gefährdung für den Patienten ist bei den üblichen kurzen Behandlungszeiten auszuschließen.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

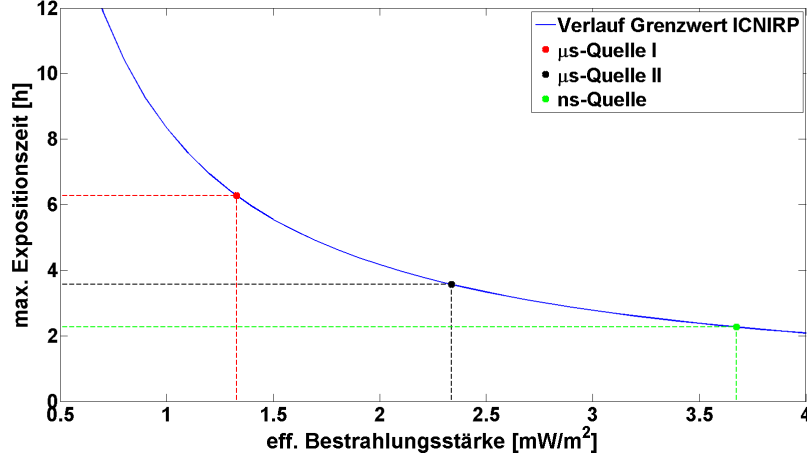


Abbildung 17: Maximale Expositionszeiten der verwendeten Entladungsarten basierend auf dem Grenzwert der ICNIRP (Daten aus [59]).

3.5 Reaktive Spezies

3.5.1 Ozon

Ozon ist eine weitgehend stabile Verbindung, welche in Luftplasmen in signifikanten Mengen gebildet wird und unter anderem mitverantwortlich für die antimikrobiellen Eigenschaften der Plasmen ist [47]. Neben den medizinischen Anwendungen zur Desinfektion der Haut und zur Unterstützung der Wundheilung sind auch die stark oxidierende Eigenschaften des Ozons bekannt, wodurch hohe Konzentrationen insbesondere in den Atemwegsorganen Zellschädigungen hervorrufen können [28, 46]. Daher sind Untersuchungen hinsichtlich der entstehenden Ozonkonzentration unabdingbar, um Aussagen zur Eignung der Plasmaquellen für den medizinischen Einsatz zu treffen.

Die Konzentrationsbestimmung erfolgt auf der physikalischen Grundlage des Lambert-Ber'schen Gesetzes, wobei das Absorptionsmaximum des Ozons bei 254 nm (Hartley Bande) betrachtet wurde. Die Konzentration c kann in Abhängigkeit der Absorptionslänge $d_{\text{Absorption}}$ berechnet werden durch:

$$c = \frac{1}{d_{\text{Absorption}} \cdot \sigma(\lambda)} \cdot \ln\left(\frac{I_0}{I}\right), \quad (24)$$

wobei $\sigma(\lambda)$ den Wechselwirkungsquerschnitt als Funktion der verwendeten Wellenlänge, I_0 die Anfangsintensität und I die Intensität nach Absorption im Plasmavolumen bezeichnet. Als Lichtquelle diente eine Niederdruck Quecksilberdampf Lampe TUV PL-S 9W/2P (Philips, Hamburg, Deutschland), die transmittierte Strahlung wurde mittels eines USB-Spektrometers

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Ava-Spec 3648-USB2 (Avantes BV, Apeldorn, Niederlande) detektiert. Der schematische Aufbau der Versuchsanordnung ist in Abb. 18 dargestellt; in Abb. 19 werden die im Entladungsspalt gemessenen Konzentrationen der drei Plasmen präsentiert.

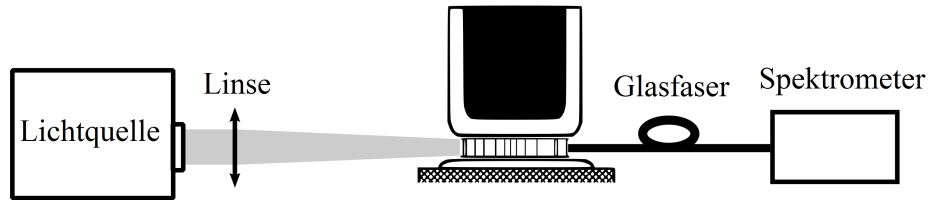


Abbildung 18: Versuchsanordnung der Absorptionsspektroskopie, nach [9].

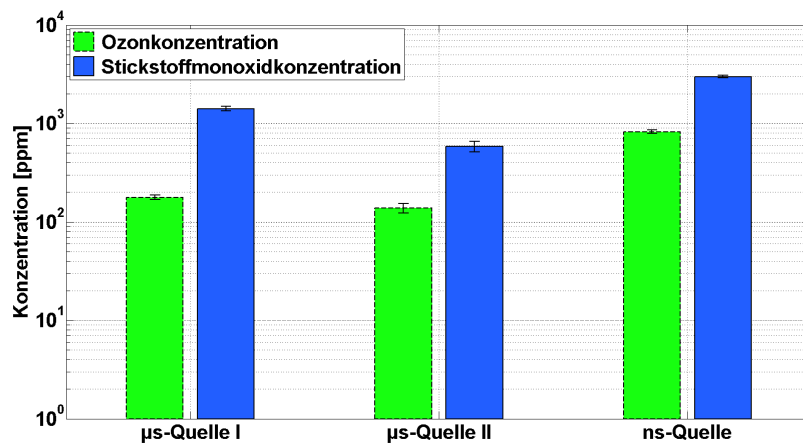


Abbildung 19: Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration der verwendeten Entladungen.

Die untersuchten μ s-Entladungen weisen vergleichbare Ozonkonzentrationen im Bereich von 350 ppm (μ s-Quelle I) bzw. 275 ppm (μ s-Quelle II) auf. Im Gegensatz hierzu steht die ns-Entladung, in welcher erheblich höhere Konzentrationen von 1650 ppm detektiert wurden. Dieses Ergebnis korreliert gut mit bereits veröffentlichter Literatur, in welcher durch Anwendung kurzer Pulsdauern eine effizientere Bildung des Ozons erreicht werden konnte [75]. Darüber hinaus wurde ein Ozon Monitor 106-L (2B Technology Inc, Colorado, USA) angewendet, als UV-Lichtquelle in diesem System dient eine Niederdruck Hg-Dampflampe [115]. Diese Technologie ermöglicht relative Ozonkonzentrationen in definierten lateralen Distanzen zur Entladung zu erfassen.

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Durch die Diffusion der Ozonmoleküle aus dem Entladungsspalt und der damit einhergehenden Mischung dieser Moleküle mit der Umgebungsluft resultiert eine kontinuierliche Abnahme der Ozonkonzentration außerhalb des Entladungsspalt. Durch Aufnahme von Messwerten in einem Distanzbereich von 5-30 cm konnte ein exponentieller Abfall der Konzentration mit steigenden Abständen detektiert werden (Daten hier nicht dargestellt).

Da sowohl positive als auch negative Auswirkungen des Ozons auf den menschlichen Organismus bekannt sind, ist eine genaue Betrachtung der vorgegebenen Grenzwerte notwendig, um einen gefahrlosen medizinischen Einsatz zu gewährleisten. An dieser Stelle werden die Grenzwerte der DGUV („*Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung*“) herangezogen, die einen 8 h Mittelwert von 60 ppb Ozon als nicht gesundheitsgefährdend einordnen [116]. Die unmittelbar in der Entladung gemessenen Konzentrationen übersteigen den vorgegebenen Grenzwert signifikant. Es ist allerdings zu beachten, dass die Bildung der reaktiven Spezies lokal begrenzt auf das Plasmavolumen von $< 80 \text{ mm}^3$ ist, woraus eine geringe Anzahl an produzierten Ozonmolekülen resultiert. Wie bereits erwähnt entsteht durch die Mischung mit Umgebungsluft eine schnelle Abnahme der Konzentration. Theoretisch sinkt somit die Ozonkonzentration auf einen Wert von 5-7 ppb im Fall der μs -Quellen und auf 30 ppb im Fall der ns-Quelle in einer Distanz von 10 cm zur Entladung (entspricht einem Kugelvolumen von 4190 cm^3). Daher wird der Grenzwert bei Einhaltung einer Distanz von 10 cm zwischen Entladung und Atemwegsorgan nicht überschritten.

Dass Ozon in geringen Konzentrationen keine toxische Wirkung auf der Haut entfaltet, liegt im wesentlichen in zwei Punkten begründet: Zum einen ist das SC von einer deckenden Lipidschicht überzogen, die eine erste Barriere im Schutz gegen Ozon darstellt. Zum anderen kann Ozon nicht in das kutane Gewebe eindringen, da es sofort mit ungesättigten Fettsäuren, Antioxidantien sowie mit dem in der Haut befindlichen Wasser reagiert [28]. Allgemein ist die Wirkung von Ozon auf biologisches Gewebe eine Frage der aufgetragenen Dosis, der Expositionszeit sowie der antioxidativen Kapazität der Probe.

3.5.2 Stickstoffmonoxid

Wie bereits erläutert gibt es zahlreiche Anwendungsgebiete für NO in der Humanmedizin. Da medizinisches NO als Flaschengas kostenintensiv ist, sind Alternativen gefragt. Es ist denkbar, dass die Plasmatechnologie hier eine Schlüsselfunktion übernehmen kann. Daher ist eine detaillierte Betrachtung der im Entladungsvolumen medizinischer Plasmaquellen gebildeter NO-

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

Spezies von entscheidender Bedeutung, unter anderem für die Sicherstellung der Einhaltung von Grenzwerten [52]. Allgemein erfolgt die Bildung von NO durch die Dissoziation von Sauerstoff und Stickstoff; in Folgereaktionen kann NO wiederum durch Sauerstoffatome zu NO₂ oxidiert werden.

Die Bestimmung der NO-Konzentration erfolgt analog zur O₃-Konzentrationsmessung durch Anwendung der Absorptionsspektroskopie (siehe Abb. 18). Als Lichtquelle dient eine elektrodenlose Entladungslampe ACI EDL-NO (ACI Analytical Control Instruments GmbH, Berlin, Deutschland) gefüllt mit Stickstoff und Sauerstoff, die transmittierte Strahlung wird durch ein Spektrometer Ava-Spec 3648-USB2 (Avantes BV, Apeldoorn, Niederlande) detektiert. Analysiert wird die plasmabedingte Absorption bei einer Wellenlänge von 226 nm. In diesem Spektralbereich ist NO der einzige Linienabsorber, alle weiteren Plasmabestandteile absorbieren kontinuierlich und werden im Rahmen einer Basislinienkorrektur berücksichtigt [9].

Die gemessenen NO-Konzentrationen sind den O₃-Konzentrationen in Abb. 19 gegenübergestellt. Für die μ s-Entladungen wurden 1400 ppm (μ s-Quelle I) sowie 600 ppm (μ s-Quelle II) gemessen, in der ns-Entladung stellt sich eine Konzentration von 3000 ppm ein. Die höhere Konzentration in der ns-Quelle entspricht aufgrund der bereits publizierten effizienteren Bildung reaktiver Spezies im Entladungsvolumen erneut den Erwartungen [75]. Die im Vergleich der μ s-Entladungen geringere Konzentration im Gasspalt der μ s-Quelle II könnte durch eine weniger effiziente Energieeinkopplung in die Entladung verursacht werden. Diese resultiert in geringeren Energiemengen, welche zur Bildung reaktiver Spezies zur Verfügung stehen.

Für eine Beurteilung der medizinischen Eignung werden an dieser Stelle die Grenzwerte der DFG herangezogen, welche eine 8-stündige Exposition mit einer Konzentration von 0,5 ppm als nicht gesundheitsgefährdend einordnen [117]. Analog zu der bereits diskutierten Ozonkonzentration überschreiten die ermittelten NO-Messwerte deutlich diesen Schwellwert. Aber auch an dieser Stelle ist das geringe Entladungsvolumen in Betracht zu ziehen, welches in einer geringen Anzahl gebildeter NO-Moleküle resultiert. Die Diffusion des NOs aus dem Entladungsspalt führt zu einem rapiden Absinken der Konzentration mit steigendem lateralen Abstand. Theoretisch sinkt die NO-Konzentration auf einen Wert von 0,1 - 0,2 ppm im Fall der μ s-Quellen und auf 0,5 ppm im Fall der ns-Quelle in einer Distanz von 5 cm zur Entladung (entspricht einem Kugelvolumen von 520 cm³). Daher kann die Einhaltung der Grenzwert bei einer Distanz von 5 cm zwischen Entladung und Atemwegstrakt gewährleistet werden.

3.6 Diskussion

Die Charakterisierung der Plasmaquellen zeigt signifikante Differenzen in den Parametern der Entladung auf, die auf Unterschiede in den Strom- und Spannungsamplituden und somit unterschiedlichen umgesetzten Leistungen im Plasma zurückzuführen sind. Ein weiterer wesentlicher Aspekt sind die anregenden Pulsdauern, die sich in verschiedenen Zündmechanismen der Plasmen manifestieren, wie sie bereits in Kap. 2.1.3 diskutiert wurden. Als Indiz für den vermuteten Zündmechanismus der ns-Quelle kann die Feldstärke im Gas-spalt herangezogen werden. Physikalisch betrachtet kann sich maximal die Durchbruchfeldstärke einstellen. Durch die Streamerzündung der μ s-Quellen können ca. um den Faktor 10-fach höhere Werte resultieren; der vermutete Zündmechanismus der ns-Quelle geht mit signifikant geringere Feldstärken einher. Dieser Effekt konnte durch die ermittelten reduzierten elektrischen Feldstärken bestätigt werden.

Des Weiteren resultieren aus den verschiedenen anregenden Pulsdauern der Plasmen Unterschiede in den emittierten elektromagnetischen Feldern. Die steilen Spannungsanstiege der ns-Pulse verursachen - verglichen mit den Emissionen der μ s-Plasmen - signifikant höhere elektromagnetische Felder. Diese wiederum stellen ein Gefahrenpotenzial in der medizinischen Anwendung dar, da sie zum einen während der Applikation in der Nähe befindliche Elektronik stören können und zum anderen durch eine frequenzabhängige Wechselwirkung eine Erwärmung des biologischen Gewebes verursachen können. Diese im Rahmen einer CE-Kennzeichnung bzw. einer elektromagnetischen Verträglichkeitsprüfung berücksichtigten Aspekte stellen somit insbesondere für ns-Plasmen eine große Herausforderung dar.

Bei der Interpretation der gemessenen Gastemperaturen sind die Entladungscharakteristiken der einzelnen Plasmen mit in Betracht zu ziehen. Bei der Berechnung der Temperatur über die OES fallen heiße Filamente aufgrund ihrer starken Lichtemission besonders ins Gewicht. Die ns-Quelle zeigt in ihrer Ausprägung ein quasihomogenes Erscheinungsbild, wohingegen bei den μ s-Quellen von einer filamentierten Entladung gesprochen werden kann, welches sich in den ermittelten Temperaturen widerspiegelt. Insbesondere die signifikant höheren maximalen Gastemperaturen der μ s-Quellen lassen sich durch diesen Effekt erklären. Darüber hinaus ist zu beachten, dass durch die Filamentbildung lokal auftretende höhere Temperaturen nicht ausgeschlossen werden können. Eine daraus resultierende mögliche thermische Schädigung der Substrate ist aufgrund der kurzen Zeitspanne von einigen 100 ns, in denen sich die Filamente ausbilden, als unwahrscheinlich zu betrachten [33].

Aus den Untersuchungen hinsichtlich der Konzentrationen reaktiver Spezies resultieren Einschränkungen für den Einsatz der Plasmaquellen auf der Haut,

3 CHARAKTERISIERUNG DER PLASMAQUELLEN

wobei für die ns-Entladung aufgrund ihrer hohen Emissionen die strengsten Eingrenzungen formuliert werden müssen. Es sind minimale Abstände zu den Atemwegsorganen einzuhalten, um durch Respiration der Reagenzien keine negativen Effekte hervorzurufen. Durch eine Gegenüberstellung der entstehenden Ozon- und Stickoxidkonzentrationen im Entladungsspalt können alle verwendeten Entladungen in das „NO-Regime“ eingeordnet werden. Wie bereits in Kap. 2.1.4 diskutiert, kommt es in Abhängigkeit der sich einstellenden Temperaturen im Entladungsspalt überwiegenden zu einer O₃- oder NO-Generation, wobei die Prozesse als gegenläufig betrachtet werden. Plasmen mit Leistungsdichten oberhalb von 1 mW/mm² werden durch Shimizu et al. in das NO-Regime eingeordnet, wodurch die hier gemachten Beobachtungen bestätigt werden [118]. Trotz der höheren gemessenen Stickoxidkonzentrationen stellt die Ozonkonzentration in der Entladung aufgrund strengerer Grenzvorgaben die limitierende Größe dar. Eine laterale Distanz von mindestens 10 cm zu den Atemwegsorganen ist einzuhalten, wodurch von einer Applikation der untersuchten Plasmen im Bereich des Gesichts abgesehen werden sollte.

Aus den Studien zur UV-Emission der Plasmen konnten zwei wesentliche Schlüsse gezogen werden: Zum einen zeigen die Entladungen eine Abstrahlcharakteristik, welche sich aus UVA- sowie UVB-Strahlung zusammensetzt; die als gesundheitsschädlich eingeordnete kurzwellige UVC- und VUV-Strahlung wurde nicht detektiert. Zum anderen konnten unter zur Hilfenahme der Richtlinien der ICNIRP maximale Expositionszeiten berechnet werden. Auch hier müssen für die ns-Entladung aufgrund der höchsten UV-Emission im Vergleich der drei Plasmen die strengsten Grenzwerte (maximal 2-stündige Exposition der Haut) formuliert werden. Hierbei ist zu berücksichtigen, dass die verwendeten Richtlinien der ICNIRP nur gesunde Haut berücksichtigen, für erkrankte Haut existieren derzeit keine Grenzwerte [59]. Allerdings wurden bisher keine bleibenden Veränderungen plasmabehandelter, erkrankter Hautpartien beobachtet, sodass von keiner Schädigung der Haut durch UV-Strahlung ausgegangen wird [6, 80]. Darüber hinaus konnten positive therapeutische Effekte der Plasmatherapie bereits durch Applikationszeiten von einigen Minuten gezeigt werden, woraus geringe Strahlungs Dosen resultieren und die berechneten maximale Expositionszeiten keine Einschränkung für den medizinischen Einsatz bedeuten [6, 79, 80].

Zusammenfassend betrachtet sind die drei hier charakterisierten Plasmaquellen, hinsichtlich der untersuchten Parameter unter Beachtung der dargelegten Einschränkungen für einen gefahrlosen Einsatz in der Dermatologie geeignet.

4 Lipid-Striping

Für einen effizienten, sicheren und großflächigen Einsatz kalter Plasmen in der Dermatologie sind weitreichende Studien bezüglich der Wirkungsmechanismen und möglicher Gefährdungen für Arzt und Patient durchzuführen. Im Vorfeld zu klinischen Studien muss der therapeutische Einsatz an in-vivo¹⁸, in-vitro¹⁹ und ex-vivo²⁰ Modellen untersucht werden.

Im Rahmen des folgenden Kapitels wird das in dieser Arbeit verwendete Modell des *Stratum corneums* hinsichtlich seiner Eignung in plasmamedizinischen Studien beurteilt. Hierbei kommen mittels des nicht-invasiven Lipidstrippings hergestellte in-vitro Hautpräparate zum Einsatz. Ein großer Vorteil dieser Herangehensweise zur Probenherstellung ist die Möglichkeit gesunde als auch erkrankte Haut in ihrer Zusammensetzung, sowie im Bezug auf plasmainduzierte Änderungen in medizinischen Einzelfallstudien zu untersuchen - ohne die Notwendigkeit einer klinischen Studie.

Um sicher zu stellen, dass die auf dem SC-Modell beobachteten plasmainduzierten Effekte vergleichbar mit denen auf Haut resultierenden Effekten sind, wird hier die Interaktion der Abrissproben mit den biologisch wirksamen Plasmakomponenten beleuchtet. In diesem Rahmen wird das SC-Modell hinsichtlich seiner Oberflächenstruktur und -zusammensetzung sowie bezüglich seiner Dicke beurteilt. Voraussetzungen, welche an das Modell gestellt werden, sind neben einer repräsentativen Zusammensetzung ein genügend hoher Wasseranteil, eine hohe Absorption im ultravioletten Bereich sowie eine mit der Haut vergleichbare Wärmeleitung. Daher wurde die Proben-erwärmung durch thermographische Studien analysiert, in einem optischen Versuchsaufbau die Wechselwirkung mit UV-Strahlung erfasst, sowie der sich einstellende pH-Wert nach einer Plasmabehandlung, welcher indirekt Informationen zum Wassergehalt der Probe enthält, untersucht.

Durch einen Vergleich der gewonnenen Resultate mit bereits veröffentlichten Studien zu menschlicher Haut erfolgt die Validierung des Lipidabrisse als Modell des SC in plasmamedizinischen Anwendungen. Für die Studien in diesem Kapitel wurden zwei der vorgestellten Entladungen verwendet:

- i) Die μ s-Quelle I, da zahlreiche Studien auf Haut vorliegen, in welchen Plasmen mit vergleichbaren Parametern genutzt wurden, wodurch eine bestmögliche Beurteilung des Hautmodells ermöglicht wird, sowie

¹⁸Abläufe, die im lebenden Organismus stattfinden

¹⁹Abläufe, die außerhalb lebender Organismen stattfinden

²⁰Verfahren, bei denen dem Organismus biologisches Material entnommen wird und außerhalb dessen für einen begrenzten Zeitraum kultiviert wird

- ii) die ns-Quelle, da bei diesem Plasma verglichen mit der μ s-Quelle die größten Abweichungen in den Effekten erwartet werden und somit auch die Effekte verschiedener Entladungen auf dem Abriss überprüft werden können.

4.1 Cyanoacrylat-Methode

Bei einer Plasmatherapie werden die erkrankten Hautareale direkt mit Plasma beaufschlagt, sodass eine Wirkung der biologisch wirksamen Komponenten hauptsächlich in den obersten Schichten der Haut zu erwarten ist. Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt daher in der Betrachtung des *Stratum corneums*, für das hier durch die Anwendung der sogenannten Stripping-Methode ein geeignetes in-vitro Modell hergestellt werden soll. Hierbei werden die obersten Zellschichten des SC durch Nutzung eines medizinischen Sekundenklebers entnommen.

Die Probenentnahme erfolgte sowohl an gesunden Probanden als auch an Jungmäusen; bei letzteren wurde eine Wildtypmauslinie C57BL/6 verwendet. Diese wurde zur Herstellung von Gewebequerschnitten, anhand derer die Abrissdicke beurteilt wurde, benötigt. Auf den zur Probenentnahme verwendeten Hautarealen wurde 12 h vor Entnahme der Kontakt mit Wasser sowie 24 h vor Entnahme die Verwendung von Seifen und Körperlotionen vermieden. Diese Voraussetzungen sind essentiell, da allein der Kontakt der Haut mit Wasser als auch die Verwendung von Seifen und Lotionen zu einem sofortigen Anstieg des epidermalen pH-Wertes führt, der auch nach mehreren Stunden noch nachweisbar ist [17]. Für die Gewährleistung einer planen Probenoberfläche wurde im Fall der Probanden die Innenseite des Unterarms als Entnahmestelle gewählt, da diese für gewöhnlich keine Behaarung aufweist. Im Fall der Jungmäuse wurden Tiere im Alter von 1-3 Tagen ausgewählt, da zu diesem Zeitpunkt noch kein Fellwachstum eingesetzt hat.

Die Durchführung der Entnahme erfolgte entsprechend der Vorgehensweise beschrieben in Jungersted et al. [119]. Vor der Probenentnahme wurden die Hautareale mittels eines mit Isopropanol getränkten Tuches (10-maliges Überstreichen der Hautstelle in zwei Richtungen) gereinigt. Circa 20 mg eines Cyanoacrylat-Klebers LiquiBand® (MedLogic Global Limited, Plymouth, United Kingdom) wurden auf eine plane Aluminiumoberfläche aufgebracht, welche anschließend leicht auf die Haut gedrückt wurde. Nach einer ca. einminütigen Aushärtungszeit wurden die Probenträger langsam von der Haut abgezogen. Durch die Verteilung des Klebers auf dem Aluminiumträger resultiert eine Probengrößen von ca. $2 \times 2 \text{ cm}^2$ (siehe Abb. 20).

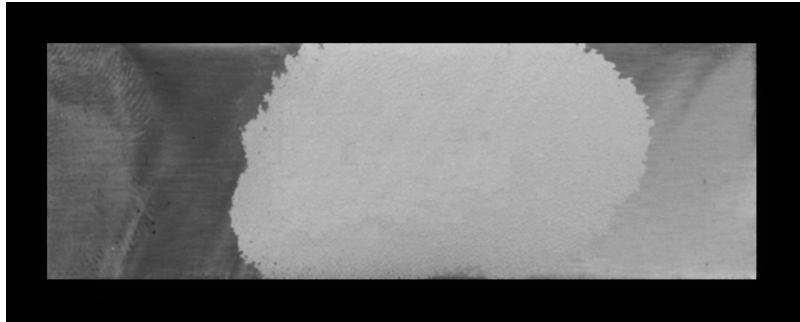


Abbildung 20: Mittels Stripping-Methode hergestellte SC-Probe auf einem Aluminiumträger.

Es wurde bereits gezeigt, dass diese mittels Lipidstripping gewonnenen Hautproben keine Abweichungen hinsichtlich ihrer Zusammensetzung zu dickeren mechanisch gewonnenen Hautproben aufweisen [119]. Des Weiteren wurde kein signifikanter Einfluss von Geschlecht und Alter der Probanden auf die Zusammensetzung der Proben nachgewiesen [12]. Darüber hinaus wurden die deckenden Eigenschaften der Proben untersucht. Hierbei wurde ein charakteristischer Bestandteil des Klebers genutzt, der bei Untersuchungen mittels Röntgenphotoelektronenspektroskopie nicht in der Stripping-Probe nachgewiesen werden konnte. Somit kann von einer deckenden SC-Schicht auf dem Cyanoacrylatkleber ausgegangen werden [12].

Eine aus der Probenherstellung resultierende Einschränkung des Modells ergibt sich aus der Orientierung des SC auf dem Probenhalter. Durch die Entnahme bilden die innen liegenden Zellschichten des SC die Oberfläche der Stripping-Probe, welche behandelt und analysiert werden können. Bei einer direkten Plasmabehandlung von Haut hingegen wird die oberste Zellschicht des SC mit Plasma beaufschlagt. Diese Zellschicht ist unmittelbar mit dem Säureschutzmantel der Haut bedeckt. Daher werde bei Verwendung dieses Modells eine Näherung eingegangen und leichte Abweichungen in Kauf genommen.

4.2 Histologische und strukturelle Untersuchungen

Die Dicke der gewonnenen SC-Proben ist ein wichtiger Parameter für nachfolgende Untersuchungen. Zum einen bestimmt diese maßgeblich Eigenschaften wie das Absorptionsverhalten gegenüber UV-Strahlung, zum anderen die Wärmeleitung und somit die resultierende Probenerwärmung. Auch für die Wahl geeigneter Untersuchungsmethoden ist die Kenntnis über die Probenausdehnung entscheidend. Darüber hinaus kann die Cyanoacrylat-Methode genutzt werden, um durch die Herstellung von Abrissserien Aussagen über

4 LIPID-STRIPING

Eigenschaften der Haut in tieferen Schichten zu ermöglichen. So wurden z. B. Studien zum Wasserverlust der Haut in Abhängigkeit von der verbleibenden Epidermisdicke durchgeführt [120]. Des Weiteren können Kenntnisse über die Abrissdicke für Untersuchungen zur Eindringtiefe einer Plasmabehandlung in die Haut genutzt werden.

Auch die Zusammensetzung der Abrissoberfläche, welche in erster Instanz mit den Bestandteilen der Plasmaentladung wechselwirkt, ist von großem Interesse. Es wird vermutet, dass plasmainduzierte Änderungen verstärkt in der Lipidmatrix und weniger in den eingebetteten Hornzellen stattfinden. Daher ist der mit Lipiden bedeckte Anteil der Probenoberfläche ein guter Parameter, um die Wechselwirkungsfläche der Entladung mit der Probenoberfläche zu beurteilen.

Um Aussagen über die Dicke der Lipidabrisse zu gewinnen, wurden eingefärbte Gewebequerschnitte untersucht. Hierfür wurden entnommene Hautbiopsien mittels eines Kryostats CM 3050 S (Leica Mikrosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) in 5 μm dicke Präparate geschnitten. Für die Fixierung wurde eine Mischung aus wasserlöslichen Glycolen und Harzen (Tissue-Tek[®] O.C.T: Compound, Sakura Finetek Deutschland GmbH, Staufen, Deutschland) verwendet.

Die Schnitte wurden anschließend für eine Untersuchung mittels Fluoreszenzmikroskopie (Axio Imager M1, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) bei 20-facher Vergrößerung eingefärbt. Hierbei wurde auf den Farbstoff Nile Red (*Diethylamino-benzophenoxazinon*) zurückgegriffen, der durch seine lipophilen Eigenschaften geeignet ist um Lipidbestandteile in histologischen Schnitten sichtbar zu machen. Des Weiteren wurden die Proben mit dem Farbstoff Dapi (*Diamidin-phenylindol*) behandelt, welcher sich an Zellkernen bzw. an DNA anlagert und damit die Lage der Zellkerne in der Probe sichtbar macht. Da Zellkerne nur in der *Epidermis* und den darunter liegenden Hautschichten vorliegen, ermöglicht diese Färbung eine klare Abgrenzung der *Epidermis* zum SC und dient der besseren Orientierung innerhalb der Gefrierschnitte.

Durch einen Vergleich histologischer Schnitte mit und ohne zuvor entnommenem Lipidabriss können Aussagen über die entnommene Menge SC und dadurch über die resultierende Probendicke getroffen werden (siehe Abb. 21 a). In Abb. 21 b ist beispielhaft ein hierfür genutzter eingefärbter Gefrierschnitt dargestellt; zu erkennen sind die einzelnen Schichten des SC sowie die darunterliegende *Epidermis*. Für die Dicke der entnommenen Probe wurde ein Wert von $(3 \pm 1) \mu\text{m}$ bestimmt. Die Berechnung basiert auf einem Probenumfang von jeweils 5 Proben mit und ohne zuvor entnommenem Lipid-Abriss, auf jeder Probe wurden 3 Einzelmessungen realisiert.

4 LIPID-STRIPING

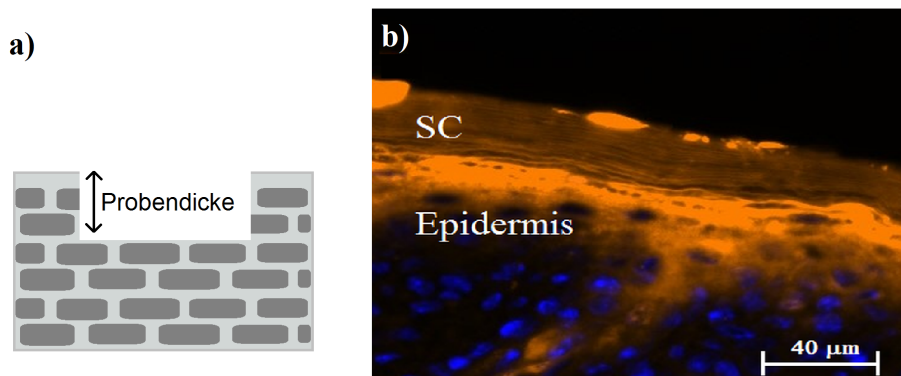


Abbildung 21: a) Schematische Darstellung einer Hautbiopsie nach Probenentnahme, b) eingefärbter Querschnitt durch das SC und die *Epidermis*, nach [10].

Für die Beurteilung der Oberflächenzusammensetzung wurden SC-Abrisse mit dem bereits vorgestellten lipophilen Farbstoff Nil Red eingefärbt und wiederum mittels Fluoreszenzmikroskopie analysiert. In Abb. 22 ist ein eingefärbter Lipidabriss dargestellt; die dunklen Bereiche der Probe können den Hornzellen zugeordnet werden, welche in die orange fluoreszierende Lipidmatrix eingebunden sind. Die anschließende Auswertung der Aufnahmen erfolgte mit Hilfe einer Matlab-Routine, mit welcher die fluoreszierenden Bereiche in das Verhältnis zu den dunklen Bereichen gesetzt und somit der prozentuale Anteil der Lipidbelegung auf der Oberfläche abgeschätzt wurde. Daraus resultierend wurde eine Oberflächenbelegung von rund 30 % Lipid mit einer natürlich bedingten Schwankung von $\pm 5\%$ berechnet. Diese Ergebnisse basieren auf der großflächigen Auswertung von 3 Aufnahmen.

Scheinbar im Gegensatz hierzu stehen Studien, welche von Kohäsionsbrüchen innerhalb der Lipidbilayer, hervorgerufen durch das SC-Stripping, ausgehen, woraus eine dünne und vollständige Belegung der Oberfläche mit Lipiden resultiert [121]. Es wird vermutet, dass von der dünnen Lipidbedeckung keine genügend hohe Fluoreszenzintensität ausgeht und somit diese mit der hier verwendeten Mikroskopie nicht detektierbar ist. Der mit 30 % ermittelte Oberflächenanteil des Lipides wird daher als unterer Grenzwert betrachtet.

Studien mittels hochauflösender Raster-Elektronen-Mikroskopie (REM) stellen sicher, dass durch den Vorgang der Probenentnahme keine strukturellen Änderungen in die Probe induziert werden, welche maßgeblich die Wirkung der Plasmen beeinflussen könnten. Die Anwendung der REM zur Beurteilung

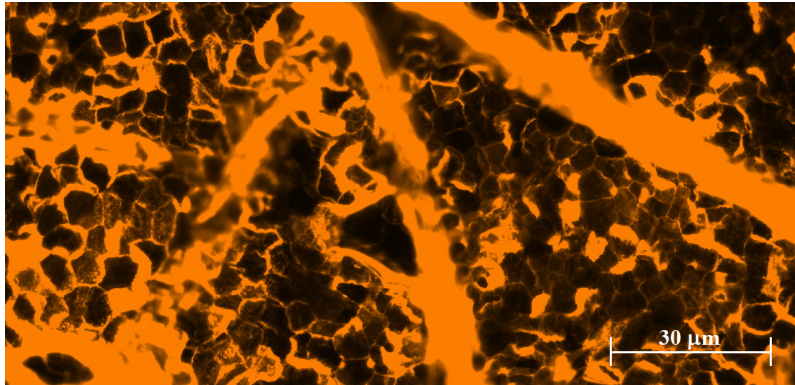


Abbildung 22: Aufnahme eines eingefärbten Lipidabrisses mittels Fluoreszenzmikroskopie [10].

der Hautstruktur ist eine etablierte Methode, sodass hier Referenzdaten zur Beurteilung herangezogen werden können [122]. Zur Verbesserung der Abbildungsqualität und um Aufladungseffekten der dielektrischen Proben entgegen zu wirken, wurden diese im Vorfeld mit Gold beschichtet. Für die Untersuchung wurde das Modell JSM_5600 LV (JOEL GmbH, Eching, Deutschland) verwendet, die Informationsquelle ist der Sekundärelektronenkontrast. Für die Aufnahmen wurden Vergrößerungen im Bereich von 100-fach bis hin zu 1000-fach genutzt; die Ergebnisse sind in Abb. 23 dargestellt. In der Übersichtsaufnahme (Abb. 23 a) ist die Netzstruktur der Haut deutlich erkennbar; Abb. 23 b zeigt eine Detailaufnahme in welcher einzelne Korneozyten sichtbar werden. Diese Struktur zeigt eine hohe Übereinstimmung mit Daten aus Studien an mechanisch gewonnenen Hautproben [122]. Daher kann davon ausgegangen werden, dass es nicht zu einer Beeinflussung der Probenstruktur durch den Entnahmeprozess kommt und somit der Abriss die Struktur der Haut gut repräsentiert.

4.3 Probenerwärmung

Ein direkter Effekt der Plasmabehandlung ist eine geringe Probenerwärmung auf einige Grad Celsius oberhalb der Raumtemperatur [69, 123]. Die Erwärmung ist abhängig von der verwendeten Entladung, der Behandlungsdauer, sowie der Wärmekapazität und Wärmeleitfähigkeit der Probe. Hervorgerufen wird die Probenerwärmung durch den Wärmeaustausch mit schweren Gaspartikeln (Ionen und neutrale Partikel). Da die freien Elektronen im Plasma effektiv Vibrationen des N_2 -Moleküls anregen, welche wiederum durch Stöße

4 LIPID-STRIPING

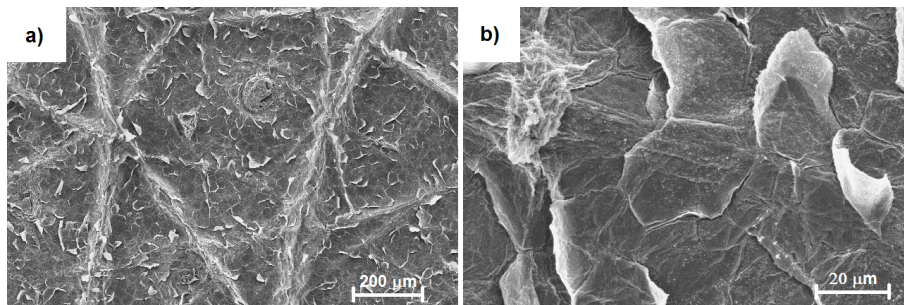


Abbildung 23: REM-Aufnahme eines Lipidabrisses, a) bei 100-facher Vergrößerung, b) bei 1000-facher Vergrößerung [10].

mit der Probenoberfläche abgeregt werden, leistet sowohl die Gastemperatur als auch die Vibrationstemperatur einen signifikanten Beitrag zur Probenerwärmung. Die heißen Elektronen haben aufgrund ihrer sehr geringen Masse nahezu keinen Einfluss. Vor diesem Hintergrund wurden hier thermografische Studien durchgeführt, in denen die Erwärmung der Stripping-Proben mit der der Haut verglichen wurden. Für eine kontaktlose Temperaturmessung wurde eine Infrarot-Kamera VarioCam[®] (InfraTec GmbH, Dresden, Deutschland) angewendet, welche IR-Strahlung in einem Bereich von $7,5\text{ }\mu\text{m}$ bis $14\text{ }\mu\text{m}$ detektiert. Für die Untersuchung wurden zeitlich aufgelöste Bilderserien aufgenommen mit einer Wiederholrate von einer Aufnahme pro Sekunde, wodurch neben der räumlich aufgelösten Temperaturverteilung auch Aussagen über den zeitlichen Verlauf der Probenerwärmung getroffen werden können. Durch den kleinen Zündabstand von 1 mm war es nicht möglich die Probenerwärmung während der Behandlung zu detektieren, daher wurden die Substrate unmittelbar nach der Behandlung betrachtet. Die thermografischen Aufnahmen wurden bis zur vollständigen Abkühlung der Proben durchgeführt, sodass eine Bewertung des Abkühlverhaltens ermöglicht wird. Die im Nachfolgenden präsentierten Ergebnisse basieren auf der Auswertung von jeweils 10 Messserien.

Nach einer einminütigen Plasmabehandlung wurde eine Probentemperatur von $24,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Fall der μs -Quelle I und eine Temperatur von $25,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ im Fall der ns-Quelle gemessen. Bei einer Raumtemperatur von $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ entspricht das einer Erwärmung um $4,4\text{ }^{\circ}\text{C}$ bzw. $5,8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (siehe Abb. 24). Diese Temperaturen können mit einer Genauigkeit von $0,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ angegeben werden und wurden durch die Auswertung einer im Durchmesser 8 mm großen Kreisfläche auf den Proben ermittelt, über welche die Temperaturwerte gemittelt wurden. Nach einem Zeitintervall von 25 s bzw. 35 s (μs -, bzw. ns-Quelle) erreichen die Lipidproben wieder ihre Ausgangstemperatur.

4 LIPID-STRIPING

Darüber hinaus wurde auch eine Bewertung der Erwärmung der Keramik-elektrode durchgeführt. Zum einen um Unterschiede resultierend aus den verschiedenen verwendeten Entladungen sichtbar zu machen, zum anderen um die Gefahr einer temperaturbedingten Irritation der Haut bei Berührung der Elektrode ausschließen zu können. Die gemessenen Temperaturen liegen oberhalb der der Proben und betragen $26,7^{\circ}\text{C}$ bei Verwendung der μs -Quelle I und $28,2^{\circ}\text{C}$ im Fall der ns-Entladung. Eine thermische Schädigung der Haut bei Berührung der Elektrode ist somit auch bei längeren Behandlungsintervallen nicht anzunehmen.

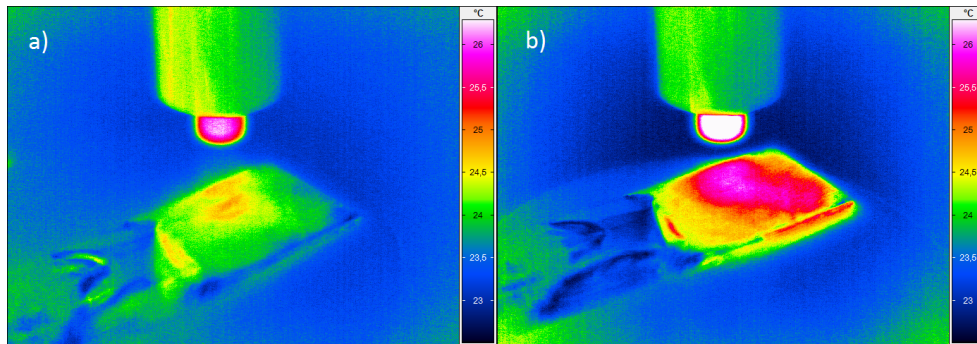


Abbildung 24: IR-Aufnahme der Lipidproben nach einminütiger Plasmabehandlung, a) μs -Quelle I, b) ns-Quelle [10].

Die verglichen zur μs -Quelle I stärkere Erwärmung durch die ns-Quelle, sowohl im Fall der Keramikelektrode als auch auf der Probe, entspricht den Erwartungen und kann durch die um den Faktor 3,5 höhere umgesetzte Leistung erklärt werden. Die in der ns-Quelle ermittelten geringeren Gastemperaturen stehen nicht im Widerspruch zu diesen Erkenntnissen, da diese wie bereits diskutiert unter anderem aus den messtechnischen Bedingungen der OES resultieren (siehe Kap. 3.6).

Die hier detektierten Erwärmungen stehen in einem direkten Zusammenhang mit der Wärmeleitfähigkeit und Wärmekapazität der behandelten Substrate. In einer vergleichbaren Studie, in welcher die plasmainduzierte Erwärmung der Haut diskutiert wurde, konnte ein Temperaturanstieg von $3,5^{\circ}\text{C}$ nach einer einminütigen Behandlung beobachtet werden [69]. Da dieses Ergebnis eine gute Übereinstimmung mit den hier präsentierten Werten aufweist, kann von einer vergleichbaren Erwärmung von Haut und Abriss ausgegangen werden. Eine zu starke Erhitzung der Haut, welche zu einer Schädigung und Denaturierung in Zellen, sowie zu strukturellen Veränderungen in den Proteinen führt, ist nicht zu erwarten [29].

4.4 Wechselwirkung mit UV-Strahlung

Die im Plasma generierte UV-Strahlung wurde als wichtiger biologisch aktiver Bestandteil identifiziert [29, 61]. Während einer Plasmabehandlung interagiert diese mit den obersten Schichten der Haut. Daher wird an dieser Stelle die Wechselwirkung des SC-Modells mit UV-Strahlung durch Messung des Absorptions- und Transmissionsverhaltens evaluiert. Zu diesem Zweck erfolgt eine Präparation des Cyanoacrylatabrisses auf UV-transparentem Quarzglas. Das Transmissionsverhalten des Quarzglases, des Cyanoacrylat-Klebers sowie des Lipidabrisses wurden in einem Wellenlängenbereich von 200 - 400 nm mit Hilfe eines UV-VIS-Spektrometers (Lambda 650, Perkin Elmer Inc., Massachusetts, USA) untersucht.

In Abb. 25 sind das Absorptionsverhalten des Lipidstripings auf Quarzglas und ein normiertes Emissionsspektrum der μ s-Quelle I, welches der besseren Interpretation des Messergebnisses dient, dargestellt. Zu beachten ist, dass die hier untersuchte Probe ein Schichtsystem aus SC, Cyanoacrylatkleber und Quarzglas darstellt, wobei durch die separate Untersuchung von Kleber und Quarzglas (hier nicht dargestellt), deren Einfluss auf das Absorptionsverhalten abgeschätzt wurde.

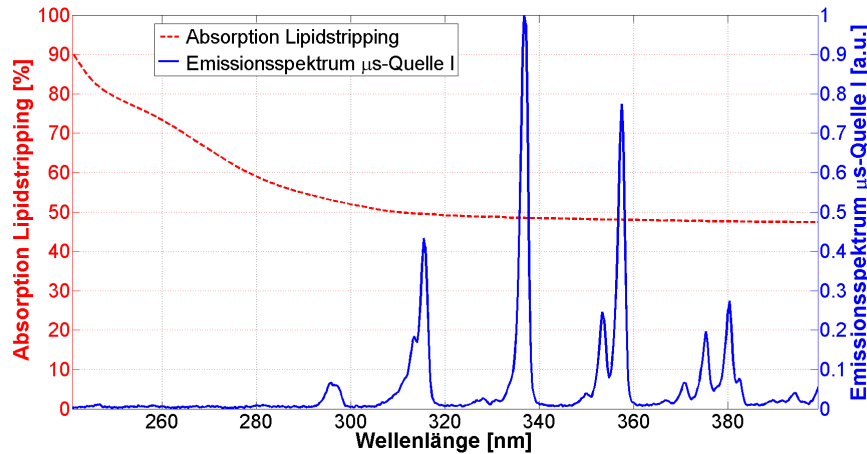


Abbildung 25: Absorptionsverhalten Lipidstripping im UV-Bereich und Emissionsspektrum der μ s-Quelle I, nach [10].

In einem Bereich von 290 - 400 nm, in welchem die intensitätsstarken Emissionslinien der Entladung liegen, zeigt der Lipidabriss eine hinreichend hohe Absorption von ca. 50 %. Da sowohl Kleber als auch Quarzglas in diesem Bereich eine hohe Transmission aufweisen, ist die in Abb. 25 dargestellte Absorption auf eine Wechselwirkung der UV-Strahlung mit der Lipidschicht

zurückzuführen. In dem Wellenlängenbereich von unterhalb 290 nm kann die in der Abbildung gezeigte Absorption nicht eindeutig der Lipidschicht zugeordnet werden, da der verwendete Cyanoacrylatkleber in diesem Bereich auch ein absorbierendes Verhalten zeigt. Da die UV-Emission des Plasmas in diesem Bereich keine signifikanten Emissionsmaxima aufweist, wurde diesem Wellenlängenbereich keine hohe Relevanz zugeschrieben.

Des Weiteren kann auch bei einem Vergleich des Absorptionsverhaltens des Abrisses mit Studien an Haut bzw. *Stratum corneum* eine gute Übereinstimmung aufgezeigt werden [124]. Daher kann in Hinblick auf die biologisch wirksame Plasmakomponente UV-Strahlung von einer die Haut gut repräsentierenden Eigenschaft des SC-Modells ausgegangen werden.

4.5 pH-Wert

Ein weiterer bereits veröffentlichter Effekt kalter Plasmen auf der Haut ist die über Stunden anhaltende Ansäuerung behandelter Bereiche: Die in der Entladung generierten NO_x -Spezies reagieren mit dem in der Haut befindlichen Wasser zu salpetriger und Salpetersäure, die den zu beobachtenden pH-Shift verursachen [7]. In diesem Abschnitt soll geklärt werden, in wieweit das verwendete SC-Modell eine vergleichbare pH-Wertänderung durch die Plasmabehandlung erfährt. Voraussetzung hierfür ist, dass die Probe einen hinreichend hohen Wasseranteil aufweist.

Für die Studie wurde eine speziell für den dermatologischen Einsatz entwickelte pH-Sonde (SkinpH-Meter[®], Derma Unit SSC3, Courage + Khazaka Electronics GmbH, Köln, Deutschland) verwendet, welche aus einer Glaselektrode mit integrierter Kalomel-Referenzelektrode besteht. Detektiert werden die sich einstellenden Potenzialänderungen, welche eine Funktion des pH-Wertes der gemessenen Lösung darstellen. Untersucht wurden sowohl der pH-Wert unmittelbar nach der Plasmabehandlung, als auch dessen zeitlicher Verlauf. Für die Durchführung der Messung wurde ein definierter Tropfen destilliertes Wasser (25 μl) auf die Probe aufgebracht; jedem Messwert liegen 6 Substrate zu Grunde.

Beide verwendeten Plasmaquellen verursachen bei einminütiger Applikation eine signifikante Änderung des pH-Wertes auf der Lipidoberfläche, welche auch nach einer Zeitspanne von 30 min noch nachweisbar ist (siehe Abb. 26). Direkt im Anschluss an die Behandlung ruft die μs -Entladung I einen pH-Shift von 1,7, die ns-Entladung eine Veränderung um 2,2 hervor. Der stärkere ansäuernde Effekt des ns-Plasmas entspricht den Erwartungen, aufgrund der höheren gemessenen NO-Konzentration im Entladungsvolumen (siehe

4 LIPID-STRIPING

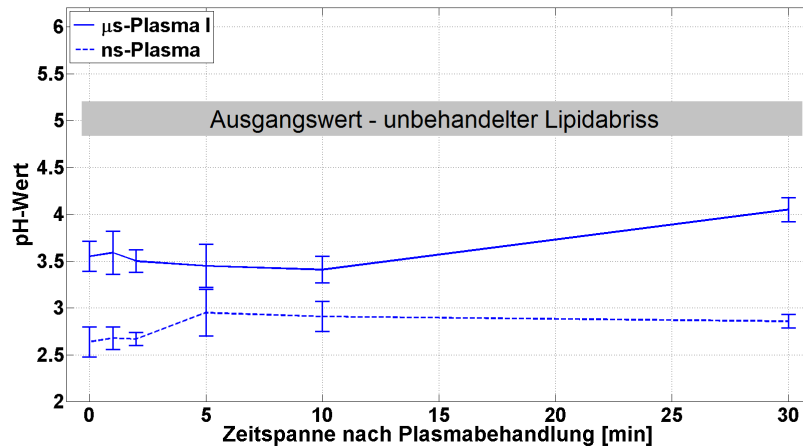


Abbildung 26: Zeitlicher Verlauf des pH-Wertes einer SC-Probe nach einminütiger Plasmabehandlung mit μ s-Quelle I und ns-Quelle, nach [10].

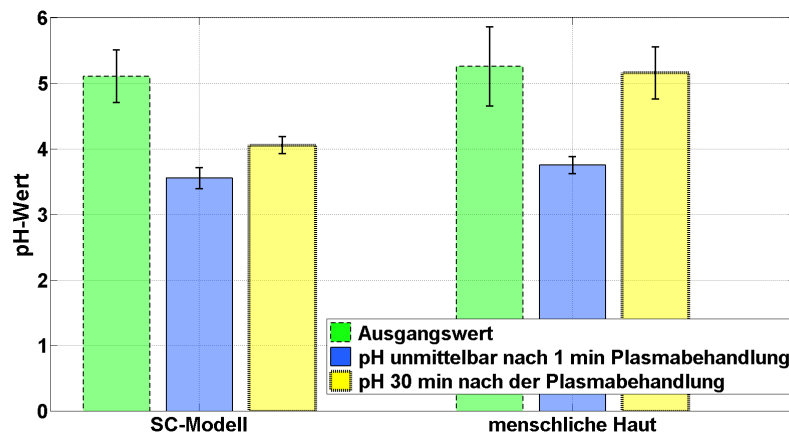


Abbildung 27: Gegenüberstellung des kutanen pH-Wertes auf SC-Probe und menschlicher Haut (Daten aus [81]) bei vergleichbarer Plasmabehandlung, nach [10].

Kap. 3.5.2).

Für einen Vergleich von Abriss und menschlicher Haut ist in Abb. 27 der Ausgangswert, der pH-Wert unmittelbar nach einer Plasmabehandlung sowie der sich nach 30 min einstellende pH-Wert für beide Substrate (SC-Modell und menschliche Haut) dargestellt [81]. Die für das SC-Modell präsentierten Werte basieren auf einer einminütigen Behandlung mittels der μ s-Quelle I.

4 LIPID-STRIPING

Die aus Mertens et al. entnommenen und dargestellten Werte für menschliche Haut wurden mit einem vergleichbaren μ s-Plasma ermittelt [81]. Der Ausgangswert sowie der direkt nach der Plasmabehandlung resultierende pH-Wert zeigen eine sehr hohe Übereinstimmung; auch die detektierten Schwankungen, hier dargestellt in Form der Standardabweichung, liegen in einer vergleichbaren Größenordnung. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass der unter den Lipiden befindliche Cyanoacrylatkleber keinen messbaren Einfluss auf die ablaufenden chemischen Prozesse hat, da er durch die Lipidschicht effektiv abgeschirmt wird. Außerdem kann trotz der geringen Probenausdehnung von $3\text{ }\mu\text{m}$ (siehe Kap. 4.2) von einem ausreichendem Wasseranteil ausgegangen werden, sodass auch in diesem Punkt der Abriss gut das Verhalten menschlicher Haut repräsentiert.

Eine Einschränkung des Hautmodells wird deutlich bei Betrachtung des sich 30 min nach der Plasmabehandlung einstellenden pH-Wertes. Im Vergleich mit dem SC-Modell kommt es auf der Haut zu einem signifikant schnelleren Angleichen des pH-Wertes an den Ausgangswert; der pH-Wert auf der Oberfläche des Abrisses ist zeitlich betrachtet stabiler. Eine mögliche Erklärung für diese Beobachtung ist die sogenannte Hautatmung. Diese beschreibt Stoffwechselprozesse im Rahmen welcher unter anderem atmosphärischer Sauerstoff in die *Dermis* und *Epidermis* eingelagert wird [125]. Das genutzte SC-Modell kann ein solches Verhalten nicht nachbilden; der Stofftransport ist nicht gegeben, wodurch die plasmagenerierten ansäuernden Reagenzien nicht abtransportiert bzw. neutralisiert werden können.

4.6 Diskussion

Der Lipidabriss stellt in der Dermatologie ein bereits etabliertes Modell des SC dar; Studien hinsichtlich der Zusammensetzung zeigen eine gute Vergleichbarkeit zu mechanisch gewonnenen Hautproben [119]. Neben der schnellen und einfachen Handhabung sind auch wirtschaftliche Aspekte des in-vitro Modells zu nennen, da mittels Lipidstripping kostengünstig Hautmodelle generiert werden können. Mit Hilfe dieser Methodik ist es möglich, das SC zu studieren ohne invasiv entnommene Hautbiopsien oder Tiermodelle verwenden zu müssen. Etablierte Tiermodelle, die für dermatologische Studien herangezogen werden, sind Maus- und Schweinemodelle, da diese eine der menschlichen Haut sehr ähnliche Zusammensetzung und Struktur aufweisen [68, 99, 101, 120]. Ein hier zu nennender Vorteil des Mausmodells ist die relativ einfache Züchtung der Tiere und die damit verbundene Möglichkeit

4 LIPID-STRIPING

knock-out Tiere²¹ zu generieren.

Durch die hier präsentierten Untersuchungen konnten zahlreiche Voraussetzungen des SC-Modells für den plasmamedizinischen Einsatz aufgezeigt werden:

- i) Homogene Substratoberfläche ohne erkennbare, durch die Probenentnahme induzierte, strukturelle Veränderungen,
- ii) genügend hohe Planarität für die Gewährleistung eines quasihomogenen Entladungsbildes und zur Vermeidung ortsfester Filamente,
- iii) hinreichende Dicke der Proben; eine effektive Abschirmung des Cyanoacrylatklebers wird gewährleistet,
- iv) ausreichende Oberflächenbelegung mit Lipiden von $\geq 30\%$,
- v) mit menschlicher Haut vergleichbare Erwärmung und somit vergleichbare Wärmeleitfähigkeit; negative thermische Effekte werden vermieden,
- vi) genügend hoher Wassergehalt, woraus ein repräsentativer, plasmainduzierter, ansäuernder Effekt auf der Probenoberfläche resultiert sowie
- vii) eine hohe Absorption im ultravioletten Bereich von 290 nm bis 400 nm.

Auf der anderen Seite müssen an dieser Stelle auch klare Einschränkungen des hier vorgestellten SC-Modells genannt werden. Eine bislang nicht betrachtete Komponente der Plasmatherapie ist das elektrische Feld, welches zur Zündung des Plasmas zwischen der Keramikelektrode und der Haut als Gegenelektrode angelegt wird. Die Wirkung des Feldes entfaltet sich in tieferen Schichten der Haut, das SC bleibt unbeeinflusst. Somit kann das hier vorgestellte Modell nicht zur Studie der Wirkung elektrischer Felder auf Zellpotenziale und somit auf die Durchlässigkeit der Zellmembran verwendet werden [55]. Darüber hinaus ist ein durchblutungssteigernder Effekt der Plasmatherapie bekannt [5]. Zum Nachweis dieses Effektes muss ein Hautmodell verwendet werden, welches neben dem SC, auch die *Epidermis* sowie die mit Blutgefäßen versorgte *Dermis* umfasst, wodurch dann wiederum die Auswirkungen der gesteigerten Durchblutung auf das SC untersucht werden können. Eine dritte Einschränkung ergibt sich im Bezug auf die ROS und RNS, welche während der Plasmatherapie in tiefere Schichten der Haut diffundieren, dort Veränderungen hervorrufen und dann rückwärtig Einfluss

²¹Begriff aus der Gentechnik, welche einer gezielte Deaktivierung bestimmter Gene bezeichnet

4 LIPID-STRIPPING

auf das SC haben können. Auch diese Auswirkungen können anhand des SC-Modells nicht evaluiert werden.

In plasmamedizinischen Studien wurde bereits eine mit dem Lipid-Stripping vergleichbare Methodik zur Herstellung von in-vitro Modellen der SC zur Risikoabschätzung einer Jet Applikation verwendet. Auch hier wurde eine gute Eignung des Modells u. a. hinsichtlich dessen Homogenität sowie absorbierenden Eigenschaften im UV-Bereich gezeigt [101].

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Haut als komplexes und größtes Organ des Körpers mit ihren zahlreichen Stoffwechsel- und Signalprozessen selbstverständlich nicht durch ein SC-Modell dargestellt werden kann. Allerdings können oberflächliche Prozesse, die einen Großteil der Wirkungsmechanismen einer Plasmatherapie ausmachen, gut anhand des Modells studiert werden. Somit kann hiermit der Forschung in der Plasmamedizin ein Modell des SC an die Hand gegeben werden, das großflächige und vielzählige Versuchsreihen erlaubt und somit eine effiziente und schnelle Integration kalter Plasmen in die Behandlung verschiedener Hauterkrankungen unterstützt.

5 Reflektometrische Messungen

Eine biologisch wirksame Plasmakomponente sind die reaktiven Sauerstoff- und Stickstoffspezies, welche während der Behandlung auf die Substratoberfläche einwirken. In Abhängigkeit von der Probenzusammensetzung entstehen durch Folgereaktionen eine Vielzahl von Reagenzien mit zum Teil guten Diffusionseigenschaften auf dieser, wodurch sie in tiefere Schichten der Haut vordringen. Die hier eingesetzte Reflektometrie erlaubt zum einen den qualitativen Nachweis verschiedenster Substanzen, zum anderen können quantitative Aussagen zu vorliegenden Konzentrationen getroffen werden.

In diesem Abschnitt werden die Ergebnisse hinsichtlich gemessener Nitrit-, Nitrat-, Wasserstoffperoxid- und Ammoniumkonzentrationen vor und nach den Plasmabehandlungen dargestellt. Es wurde sowohl eine in-vitro Studie auf Lipidabrissen als auch eine in-vivo Studie auf gesunder humaner Haut durchgeführt. In diesem Rahmen erfolgt auch ein Vergleich der drei vorgestellten Entladungsmodi. Ergänzend zum Kap. 4 werden Rückschlüsse zur Eignung des SC-Abrisses als Modell des *Stratum corneums* gezogen und Einschränkungen diskutiert. Darüber hinaus werden die therapeutischen Effekte der untersuchten Reagenzien auf und in der Haut validiert.

5.1 Messmethodik

Ein hier zu Diagnostikzwecken eingesetzte Zweistrahlspektrometer RQflex 10 (Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland) ermöglicht die Konzentrationsbestimmung verschiedenster Substanzen in wässrigen Lösungen. Hierfür kommen für die jeweilige zu untersuchende Substanz individuelle Teststäbchen zum Einsatz. Die Auswertung des auf farbigen Komplexbildungsreaktionen beruhenden Farbumschlages auf diesen Teststäbchen erfolgt an Hand des reflektierten Anteil des Lichtes. In Kombination mit den im Spektrometer hinterlegten Referenzdaten werden die entsprechenden Konzentrationen automatisiert berechnet.

Die untersuchten chemischen Verbindungen werden mittels destilliertem Wassers von der Probenoberfläche gelöst. Im Fall der Nitrit- (NO_2^-), Nitrat- (NO_3^-), und Wasserstoffperoxidkonzentrationen (H_2O_2) wird ein Volumen von 50 μl , im Fall der Ammoniumkonzentrationen (NH_4^+) ein Volumen von 100 μl verwendet. Die variierenden Flüssigkeitsmengen liegen in den Herstellerangaben zur Durchführung der verschiedenen Messreihen begründet. Im Anschluss werden die entsprechenden Teststäbchen mit den hergestellten Testlösungen benetzt und der resultierende Farbumschlag wird reflektometrisch ausgewertet. Für die Plasmabehandlung wurde eine Behandlungsdauer

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

von 1 min gewählt, der Zündabstand wurde konstant auf 1 mm gehalten. Die dargestellten Ergebnisse basieren sowohl auf einer Messreihe unter Verwendung des in-vitro SC-Modells, als auch auf einer in-vivo Messreihe auf menschlicher Haut. Den Messwerten liegt jeweils ein Stichprobenumfang von $n = 10$ zugrunde. Die Stichproben setzen sich zusammen aus fünf gesunden Probanden, von denen jeweils zwei Proben sowohl für die in-vitro als auch die in-vivo Messreihe analysiert wurden. Für die Beurteilung der Signifikanz der Ergebnisse wurde die Student-Verteilung (T-Test) für verbundene Stichproben angewendet.

Um in einem ersten Schritt mögliche Störgrößen bei der Verwendung des SC-Abrisses als Untersuchungsobjekt zu identifizieren, wurden Messreihen zum Einfluss des Aluminiumträgers sowie des verwendeten Hautklebers durchgeführt. Trotz der Annahme einer deckenden Lipidschicht kann eine Wechselwirkung nicht ausgeschlossen werden, wodurch diffusionsfähige Stoffe die Konzentrationsmessungen beeinflussen könnten. Auf dem Aluminiumträger, der ausgehärteten Kleberoberfläche sowie der unbehandelten SC-Probe konnte keiner der hier untersuchten Stoffe ohne vorhergehende Plasmabehandlung nachgewiesen werden. Darüber hinaus wurde eine ergänzende Testreihe zum Nachweis von Formaldehyd (CH_2O) realisiert. Formaldehyd als Bestandteil des Hautklebers soll hier als Maß für die Diffusion von Kleberbestandteilen durch den Lipidabriss an die Oberfläche der Probe dienen. Vor und nach einer Plasmabehandlung konnte Formaldehyd auf der Cyanoacrylatkleberoberfläche detektiert werden, auf dem Lipidabriss war zu keiner Zeit ein Nachweis möglich. Auf diesen Messreihen beruhend kann von einer abschirmenden Funktion des SC ausgegangen werden; diffusionsfähige Kleberbestandteile treten nicht als Störgröße auf.

5.1.1 Genauigkeit des Verfahrens

Zur Bestimmung der aus der angewendeten Methodik resultierenden Genauigkeit wurde eine Prüfmessreihe mittels Testlösungen realisiert. In diesem Rahmen wurden Lösungen mit vordefinierten Konzentrationen der Stoffe NO_2^- , NO_3^- , H_2O_2 und NH_4^+ nach Herstellerangaben angesetzt. Der Messreihe wurde auch ein Stichprobenumfang von $n = 10$ zugrunde gelegt; die resultierenden Daten sind in Tabelle 5 zusammengefasst.

Die Ergebnisse zeigen signifikante, systematische Abweichungen der Messwerte vom Sollwert, sowie gerätebedingte Schwankungen, welche sich in den Standardabweichungen widerspiegeln. Das heißt das Verfahren ist geeignet, durch relative Vergleiche der Messwerte untereinander Unterschiede in den

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

Tabelle 5: Fehlerabschätzung der reflektometrischen Messungen.

	NO_2^-	NO_3^-	H_2O_2	NH_4^+
Sollwert [mg/l]	10	30	6,7	2,5
Messwert [mg/l]	$8,5 \pm 0,7$	$25,4 \pm 1,8$	$6,1 \pm 0,3$	$2,7 \pm 0,7$
Abweichung	-15 %	-15 %	-9 %	+8 %

verschiedenen Entladungsmodi zu detektieren. Die Schwankungen der Messwerte werden durch Anwendung des T-Tests berücksichtigt. Allerdings müssen mögliche Abweichungen der Absolutwerten bei der Diskussion berücksichtigt werden, gerade im Hinblick auf die Einhaltung möglicher Grenzwerte.

5.1.2 Benetzbarkeit der Proben

Im Rahmen dieser Untersuchungen wird durch Aufnahme von Kontaktwinkeln geklärt, inwieweit eine Plasmabehandlung die Benetzbarkeit der betrachteten Oberflächen beeinflusst. Hintergrund für diese Messung ist das fest definierte Volumen, welches in der reflektometrischen Analyse verwendet wird, um die zu untersuchenden Substanzen von der Oberfläche zu lösen. Die Kontaktfläche zwischen Tropfen und Oberfläche spielt dabei eine erhebliche Rolle für die Menge an gelösten Reagenzien und soll daher bei der Bewertung der reflektometrischen Messungen Beachtung finden.

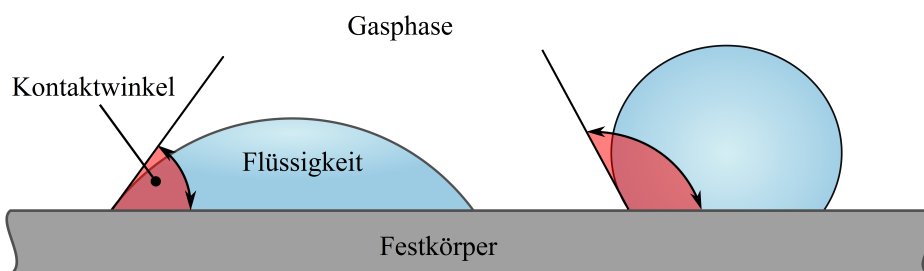


Abbildung 28: Schematische Darstellung der Tropfenbildung und die daraus resultierenden Kontaktwinkel für eine gut (links) bzw. schlecht (rechts) benetzbare Oberfläche.

Für die Durchführung wurde ein Messsystem G10 (Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland) kombiniert mit einer „Drop-Shape Analysis“-Software

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

DSA1v.1.80 (Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland) angewendet. Diese Software erlaubt die Analyse basierend auf einer computergestützten Tropfenerzeugung sowie der sequenziellen Aufnahme (10 Frames/s) in individuell wählbaren Zeitintervallen [126]. Zur Bestimmung der beidseitigen Kontaktwinkel wurde eine Tropfengröße von 10 μl definiert.

Der Kontaktwinkel ist definiert über die Steigung der Tangente, welche an den Dreiphasenkontaktpunkt (Tropfen-Oberfläche-Luft) angelegt wird und somit die Steigung der Konturlinie in diesem Punkt abbildet (siehe Abb. 28). Betrachtet wird der innerhalb des Tropfens liegende Winkel; die hier präsentierten Ergebnisse basieren auf dem Young-Laplace-Auswerteverfahren. Hierbei handelt es sich um den theoretisch genauesten Fit, da die gesamte Tropfenform sowie die Verformung des Tropfens aufgrund seines Eigengewichts Berücksichtigung finden [126].

Zur anschließenden Auswertung kam eine Software Origin 8.6 G zum Einsatz; der Verlauf des Mittelwertes der rechts- und linksseitigen Kontaktwinkel wird zeitaufgelöst aufgetragen. Durch einen asymptotischen Fit unter Beachtung der Standardabweichung der Messwerte erfolgt die Bestimmung des Grenzwertes, welcher als Messwert der jeweiligen Datenreihe dient. Analysiert wurden jeweils zwei Proben, behandelt mit den drei verwendeten Plasmen sowie zwei unbehandelte Substrate als Referenz. Aufgrund der verwendeten Messtechnik sind nur Messreihen auf dem SC-Modell realisierbar. Pro Probe wurden sechs Messpunkte gesetzt, sodass ein Stichprobenumfang von $n = 12$ resultiert.

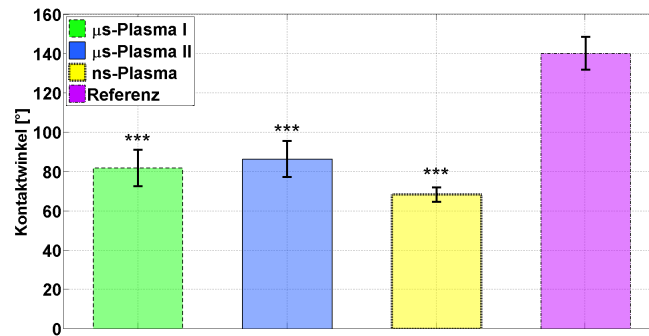


Abbildung 29: Kontaktwinkel gemessen auf SC-Modellen vor bzw. nach einminütiger Plasmabehandlung; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen behandelter Oberfläche und Referenzprobe wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$).

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

Alle verwendeten Plasmen zeigen eine deutliche Steigerung der Benetzbarkeit der Proben, wobei mittels ns-Entladung eine maximale Steigerung erreicht werden konnte (siehe Abb. 29). Der Vergleich der μ s-Plasmen I und II zeigt keine signifikanten Unterschiede. Wie in der Abb. 28 dargestellt, hat der Kontaktwinkel direkten Einfluss auf den benetzten Oberflächenanteil auf der Probe und daher auf die Menge an gelösten Reagenzien. Im Mittel ergibt sich eine Kontaktfläche zwischen Tropfen und Oberfläche von $2,4 \text{ mm}^2$ (Referenz), $10,3 \text{ mm}^2$ (μ s-Plasmen I), $9,5 \text{ mm}^2$ (μ s-Plasmen II) und $12,7 \text{ mm}^2$ (ns-Plasma). Somit muss die gesteigerte Benetzbarkeit als weiterer systematischer Fehler bei der Diskussion der Resultate Berücksichtigung finden.

5.2 Nitrit / Nitrat

In diesem Abschnitt werden die auf der Probenoberfläche während der Plasmabehandlung gebildeten Nitrit- (NO_2^-) und Nitratspezies (NO_3^-) präsentiert. Im Rahmen der Nitritmessung wurde ein Messbereich von $0,5 - 25 \text{ mg/l}$ (1.16973.0001, Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland), für die Nitratmessungen ein Bereich von $3 - 90 \text{ mg/l}$ (1.16995.0001, Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland) gewählt. In den Abb. 30 und 31 sind die resultierenden Nitrit- und Nitratkonzentrationen aus den durchgeführten in-vitro und in-vivo Studien in Abhängigkeit der verwendeten Plasmaentladung dargestellt. Beide Substanzen waren vor einer Plasmaapplikation auf keinem der Substrate nachweisbar.

Wie in Abb. 30 dargestellt, führen alle genutzten Entladungen auf beiden untersuchten Oberflächen zu einer Nitritanreicherung. Es ist allerdings keine eindeutige Beurteilung der Effizienz der NO_2^- -Bildung in den verschiedenen Entladungen möglich, da hier Haut und Abriss teilweise widersprüchliche Ergebnisse liefern.

Bei der Ermittlung der Nitratkonzentration muss bei gleichzeitigem Auftreten von Nitrit oberhalb eines Grenzwertes die Querempfindlichkeit der verwendeten Messmethodik berücksichtigt werden. Laut Herstellerangaben kommt es ab einer Konzentration von $0,5 \text{ mg/l NO}_2^-$ zu einer signifikanten Beeinflussung. Dieser Fakt wurde durch Verwendung der nachstehenden Gleichung berücksichtigt [7]:

$$c_{\text{NO}_3^-} = c_{\text{Messwert}} - c_{\text{NO}_2^-} \quad (25)$$

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

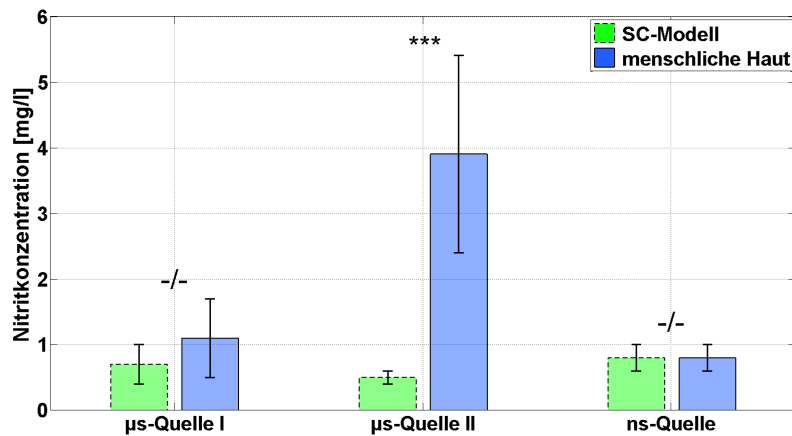


Abbildung 30: Reflektometrische Bestimmung der Nitritkonzentration auf SC-Modell und menschlicher Haut; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$), -/- ($p > 0,05$).

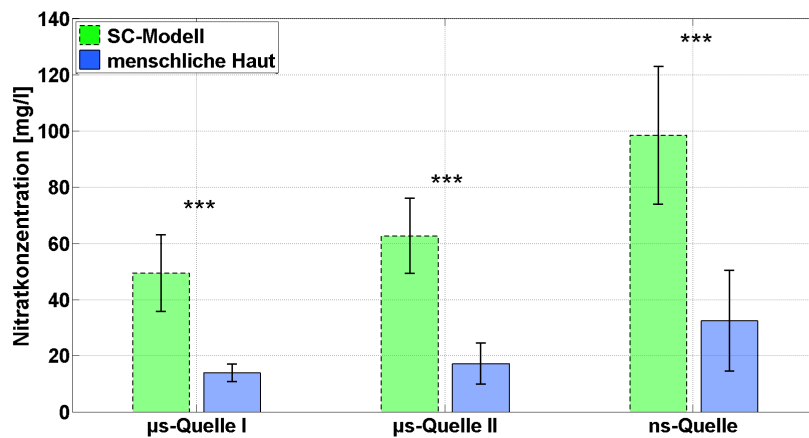


Abbildung 31: Reflektometrische Bestimmung der Nitratkonzentration auf SC-Modell und menschlicher Haut; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$).

Bezugnehmend auf die Nitratmessreihe liefert der Vergleich von Haut und Hautmodell signifikante Unterschiede, wobei die auf dem Abriss nachgewiesenen Konzentrationen unabhängig von der applizierten Entladungsart die auf

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

der Haut ermittelten Messwerte um 200 - 250 % übersteigen. Bei Betrachtung der plasmainduzierten Änderungen auf der Abriss-Probe können signifikante Unterschiede zwischen den Entladungen festgestellt werden. Bei einem Vergleich der beiden μ s-Plasmen steigt die NO_3^- Konzentration mit zunehmender umgesetzter Leistung an; die ns-Entladung zeigt die größte Konzentration. Die durch die Plasmen auf der Haut hervorgerufenen Konzentrationen zeigen eine vergleichbare Tendenz, sind aber weniger signifikant. Daher kann davon ausgegangen werden, dass der Abriss in dieser Untersuchung die Reaktionen der Haut gut widerspiegelt. Es können Unterschiede in den einzelnen Plasmen anhand dieses Modells diskutiert werden, wobei eine relative Betrachtung der Werte zu empfehlen ist.

Die präsentierten Messwerte zeigen eine gute Übereinstimmung mit den in Helmke et al. präsentierten plasmainduzierten Nitrit- und Nitrat-Konzentrationen auf verschiedenen organischen Oberflächen. Auch hier konnte eine signifikante Steigerung der Spezieskonzentration bei gleichzeitigem Erhöhen der Plasmaleistung gezeigt werden [7].

Die Bildung von Nitrit und Nitrat im Plasmavolumen entsteht durch die Wechselwirkung von reaktiven, molekularen Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen. Diese Verbindungen schlagen sich auf die behandelten Oberflächen nieder, wo sie mit der in dem Substrat vorhandenen Feuchtigkeit zu salpetriger und Salpetersäure weiterreagieren. Im nachfolgenden sind zwei mögliche Reaktionswege notiert [7]:



Somit korreliert der Anteil an gebildetem Nitrit und Nitrat direkt mit dem sich auf der Oberfläche einstellenden pH-Wert. Es kann davon ausgegangen werden, dass der detektierte Nitrit- und Nitrat-Gehalt aus der auf der Oberfläche vorliegenden, vollständig dissoziierten Salpetersäure resultiert.

Der aktuelle Stand der Forschung geht von einem typischen kutanen pH-Wert von 5,4 - 5,9 aus [17]. Durch eine Plasmatherapie mit den hier vorgestellten Entladungen kann ein signifikanter pH-Shift induziert werden, mit pH-Werten im Bereich von 2,5 - 3,5 direkt im Anschluss der Behandlung (vergleiche Kap. 4.5). Neben den von außen wirkenden Mechanismen, hier z.B. in Form der Plasmatherapie, sind auch endogene (körpereigene) Vorgänge bekannt, welche zur Ansäuerung sowie zur Aufrechterhaltung des Säureschutzmantels der Haut beitragen. Der pH-Wert sowie die puffernden Eigenschaften der Haut resultieren aus der Komposition der Bestandteile des SC sowie aus dem Einfluss der Sekrete aus Talk und Schweiß [17]. Eine Blockierung dieser

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

Mechanismen hat negative Auswirkungen auf die Selbstregulierung der Haut zur Folge.

Die Haut zeigt zahlreiche pH-abhängige Funktionen; so wird durch den kutanen pH-Wert die Aktivität epidermaler Mikroorganismen geregelt [127]. Darüber hinaus konnte bei Vorliegen eines pH-neutralen bzw. basischen Niveaus eine beschleunigte Degradation der Korneodesmosomen, eine gestörte Integrität und Kohäsion der Haut, sowie eine verzögerte Wiederherstellung der Hautbarriere beobachtet werden [127, 128]. Als Ursache wurde u. a. die Beeinflussung der katalytischen Aktivität von Schlüsselenzymen identifiziert, welche zur Lipidverarbeitung und Synthese essentieller Ceramide und somit zur Ausbildung der dicht gepackten lamellaren Struktur des SC benötigt werden [17].

Es ist bereits bekannt, dass das Auftreten von Hauterkrankungen, im speziellen *atopische Dermatitis* und *Ichthyosen*, meist mit einem erhöhten kutanen pH-Wert einhergeht [17, 20]. Die Veränderungen können bis hin zu basischen Werten führen, wodurch erheblich die natürlichen Funktionen der Haut gestört werden. Auch in chronischen Wunden wurden basische Abnormalitäten im pH-Wert nachgewiesen, welche mit einer gesteigerten Bakterienbesiedlung einhergehen. In sauren Milieus wird dieses Wachstum signifikant gehemmt [7]. Daher ist der durch Nitrit- und Nitratspezies verursacht ansäuernde Effekt einer Plasmatherapie als ein wesentlicher Bestandteil der komplexen Wirkmechanismen zu betrachten.

5.3 Wasserstoffperoxid

Das Wasserstoffperoxid (H_2O_2) ist eine weitgehend stabile Verbindung, die der Gruppe der reaktiven Sauerstoffspezies zuzuordnen ist. Seine stark oxidative Eigenschaft beruht auf der Freisetzung von Sauerstoff [129]. Die Detektion dieser Spezies im Anschluss an eine Plasmabehandlung wurden mit Hilfe von Teststäbchen (1.16974.0001, Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt, welche einen Messbereich von 0,2-20 mg/l abdecken. In Abb. 32 sind die erfassten Ergebnisse aufbereitet; auf den unbehandelten Oberflächen war Wasserstoffperoxid zu keiner Zeit nachweisbar.

Auffällig erscheint, dass bei Verwendung der μs -Entladung II unabhängig von der untersuchten Oberfläche keine H_2O_2 -Spezies festgestellt werden konnten. Bei einem Vergleich plasmainduzierter Änderungen auf Abriss und Haut sind im Besonderen Bezug nehmend auf die ns-Entladung signifikante Unterschiede erkennbar, jedoch kann bei Beurteilung der gesamten Datenlage nicht von einer eindeutigen Tendenz gesprochen werden. Im Vergleich der beiden H_2O_2 -

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

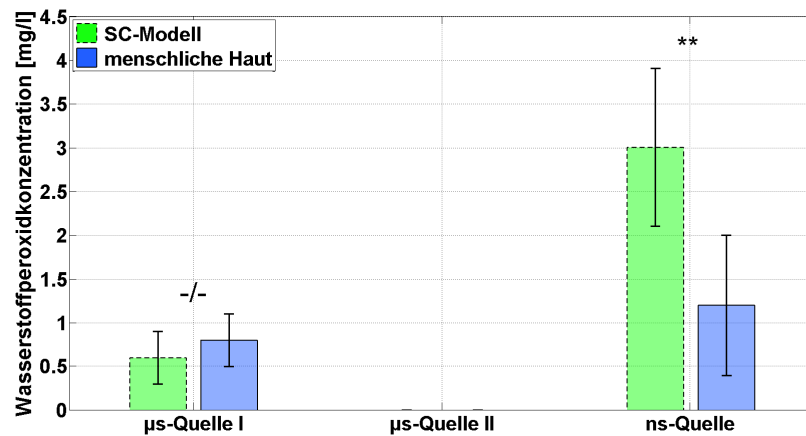


Abbildung 32: Reflektometrische Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit ** ($p \leq 0,01$), -/- ($p > 0,05$).

generierenden Plasmen können auf der Abrissprobe deutlich höhere Konzentration bei Anwendung der ns-Quelle nachgewiesen werden ($p > 0,05$), bei Betrachtung der Haut ist eine geringe, jedoch nicht signifikante Erhöhung, erkennbar. Bei der Interpretation der Ergebnisse können folgende Schlüsse gezogen werden:

- i) Die Bildung der H_2O_2 -Spezies ist stark abhängig von der gewählten Entladungsart,
- ii) die ns-Entladung zeigt eine besonders effektive H_2O_2 -Generation und
- iii) der Abriss ist als Modell des SC geeignet, allerdings sollte von einem Vergleich absoluter Werte Abstand genommen werden.

In der *Epidermis* ist das Gleichgewicht zwischen der Proliferation und Differenzierung auf der einen Seite und dem programmierten Zelltod auf der anderen Seite essentiell zur Sicherstellung der intakten Selbstregulierung. Neben zahlreicher ROS spielt H_2O_2 hier eine zentrale Rolle und wird durch nahezu alle Arten oxidativen Stresses sowie aus einer Vielzahl weiterer Sauerstoffradikale im Körper gebildet [24]. Insbesondere entsteht H_2O_2 im Organismus als Bestandteil des zellulären Stoffwechsels bei der Lipidperoxidation, welche die Oxidation von Lipiden durch oxidativen Stress bezeichnet [130]. Darüber hinaus entsteht H_2O_2 während des regulatorischen Prozesses der Wundheilung. Hierbei werden die Keratinozyten Entzündungsreizen ausgesetzt, worauf sie

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

u. a. mit der Produktion von H_2O_2 reagieren. Durch die zytotoxische Wirkung des H_2O_2 wird die mit der Wundheilung einhergehende Immunabwehr unterstützt [24, 25]. Die antiseptischen und antibakterielle Eigenschaften werden daher bei der Desinfektion von Wunden mit 1 - 6 % H_2O_2 -Lösungen genutzt [129].

Es ist allgemein bekannt, dass H_2O_2 durch seine zytotoxischen Eigenschaften in Abhängigkeit von der vorliegenden Konzentration in Zellen sowohl Nekrose als auch Apoptose induzieren kann, wobei die Anfälligkeit der Keratinozyten gegenüber Wasserstoffperoxid abhängig von ihrem jeweiligen Differenzierungsstadium ist [24]. Des Weiteren kann H_2O_2 Schädigungen im Genom oder in Proteinen hervorrufen [24, 130]. Als Ursache dieser negativen Effekte werden durch H_2O_2 induzierte Oxidationsprozesse genannt [129]. Der zelluläre Schutz gegenüber Wasserstoffperoxid besteht in Form von Enzymen, welche in den Zellen als Radikalfänger fungieren. Peroxidase ist ein Enzym, welches im Körper für den Abbau von H_2O_2 zu Sauerstoff und Wasser zuständig ist [131].

Eine weitere Funktionen des Peroxids im Organismus ist seine Funktion als Neurotransmitter. Das H_2O_2 Molekül ist klein und kann ungehindert in Zellen bzw. Gewebe hinein und wieder hinaus diffundieren, wodurch es die Möglichkeit hat zahlreiche Signalübertragungswerte zu beeinflussen und somit alle Voraussetzungen für einen Botenstoff aufweist [24]. Skepsis über die mögliche Funktion als Botenstoff liegt in den bekannten negativen Einflüssen des H_2O_2 auf den Organismus begründet. Allerdings lassen sich hier Parallelen zum als Botenstoff anerkannten NOs ziehen [132]. Aktuelle Studien bestätigen H_2O_2 als essentiellen Botenstoff im menschlichen Körper, der maßgeblich die Signalverarbeitung im gesunden Organismus beeinflusst. Das in der Zelle gebildete H_2O_2 wird unmittelbar durch Enzyme abgefangen, anschließend kommt es durch die entstehenden Reaktionsprodukte zu einer gezielten Oxidation bestimmter Proteine, wodurch diese an- oder abgeschaltet werden. Durch diesen Wirkmechanismus werden die Zellaktivität und somit wichtige Zellfunktionen reguliert [129].

Die zahlreichen Effekte des H_2O_2 im Organismus können z. B. gewinnbringend bei der Therapie von Hauterkrankungen, die mit einer gestörten Zelldifferentiation einhergehen, genutzt werden. Hier könnte durch die gezielte Wahl der Plasmaentladung eine individuell einstellbare H_2O_2 -Konzentration zur Stimulation der Zellproliferation generiert werden. Darüber hinaus ist durch die geringen gemessenen Konzentrationen von keiner schädigenden Wirkung während der Plasmabehandlung auszugehen. Diese Annahme wird durch den Fakt der effektiven Barrierewirkung des SC, wodurch von einer geringen Wechselwirkung des H_2O_2 mit lebenden Zellen tieferer Hautschichten ausgegangen werden kann, unterstützt.

5.4 Ammonium

Die anorganische Stickstoffverbindung Ammonium (NH_4^+) ist ein positiv geladenes Ion, welches gerne Salze entsprechender Formel bildet. Im Rahmen der Konzentrationsbestimmungen wurden Teststäbchen (1.16892.0001, Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland) mit einem Messbereich von 0,2- 7 mg/l angewendet. Die resultierenden Messwerte nach einer Plasmaapplikation sind in Abb. 33 aufbereitet. Auf menschlicher Haut, nicht jedoch auf dem SC-Modell, konnten bereits im Vorfeld der Plasmabehandlung geringe Mengen Ammonium im Bereich von $\sim 0,5$ mg/l nachgewiesen werden.

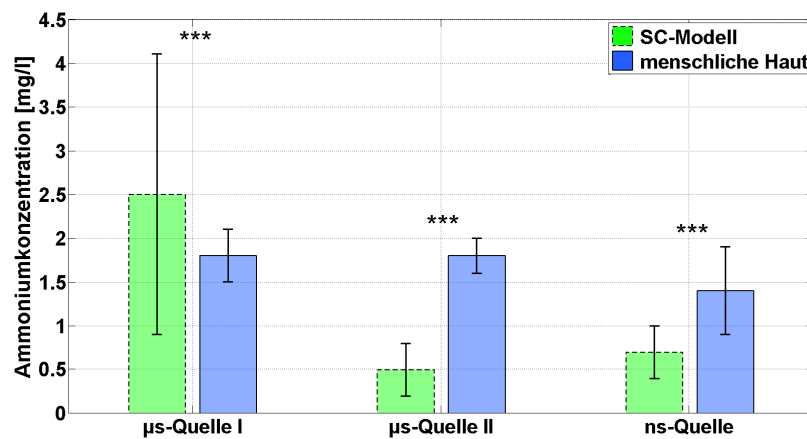


Abbildung 33: Reflektometrisch gemessene Ammoniumkonzentration; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit * * * ($p \leq 0,001$).

Die Auswirkungen einer Plasmabehandlung auf Haut sind signifikante Konzentrationssteigerungen ($p \leq 0,001$), die in Abhängigkeit von der verwendeten Entladungsart in einem Bereich von 150 - 250 % liegen. Auffällig erscheint hier, dass die geringste Steigerung mit der ns-Entladung, welche für die effiziente Generation reaktiver Spezies bekannt ist, erreicht werden konnte.

Bei einem Vergleich der plasmainduzierten Konzentrationen auf Haut und Abriss zeigen sich widersprüchliche Ergebnisse. Es konnten partiell signifikante Unterschiede festgestellt werden, jedoch sind die Ergebnisse nicht konsistent, wodurch auf Grundlage dieser Daten keine eindeutigen Aussagen zu Tendenzen getroffen werden können. Jedoch konnte der Nachweis erbracht

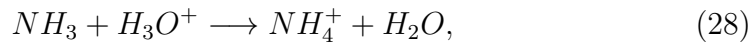
5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

werden, dass die verwendeten Entladungen zu einer Anreicherung der Hautoberfläche mit Ammonium führen.

Im menschlichen Organismus tritt Ammonium als Aminosäurerest auf und ist u. a. in Körperflüssigkeiten wie dem Blut oder der Lymphe zu finden. Darüber hinaus tritt NH_4^+ in verschiedenen Prozessen im Organismus in Erscheinung [133, 134]:

- i) Im Rahmen der Degradation von Proteinen; als Primärprodukte entstehen u.a. Aminosäuren, welche anschließend vollständig zu CO_2 , H_2O , NO_3^- und NH_4^+ abgebaut werden,
- ii) für den Citratzyklus²² für den Ablauf bestimmter Reaktionen sowie
- iii) durch seine Ähnlichkeit zum Kalium-Ion, kann es dessen Platz im Organismus einnehmen; das NH_4^+ dockt an kaliumgesteuerten Synapsen an, blockiert diese und wirkt dort als Nervengift.

Des Weiteren ist Ammonium die konjugierte Säure zur Ammoniaklauge NH_3 , mit welcher es in wässriger Umgebung ein pH-wertabhängiges Dissoziationsgleichgewicht bildet:



wobei mit zunehmendem pH-Wert der Ammoniakanteil ansteigt. Das heißt es kann davon ausgegangen werden, dass mit der Generation der NH_4^+ -Spezies die Bildung von Ammoniak auf der Haut einhergeht. Jedoch wirkt der ansäuernde Effekt der Plasmabehandlung durch Verschiebung des Dissoziationsgleichgewicht der Bildung entgegen. Daher kann davon ausgegangen werden, dass keine negativen Effekte durch die ätzenden Eigenschaften des Ammoniaks zu erwarten sind. Zudem ist die Gefahr einer Hautresorption durch eine dermale Penetration nicht gegeben [117].

Basierend auf den erfassten Daten sind im Hinblick auf die Anwendungssicherheit der Entladungen keine toxischen Eigenschaften des Ammoniums auf der Haut zu erwarten. Dieses Annahme liegt zum einen in den geringen gemessenen Konzentrationen begründet, zum anderen kann davon ausgegangen werden, dass die in der Haut befindlichen Synapsen unbeeinflusst bleiben, da diese erst in der *Dermis* lokalisiert sind und nach außen gut durch die dicht gepackten Schichten der *Epidermis* geschützt werden. Jedoch sollte einschränkend erwähnt werden, dass das Testverfahren bzw. die verwendeten

²²Bezeichnet einen biochemischen Prozess, welcher im Körper zur Energiegewinnung aus dem oxidativen Abbau organischer Substanzen dient.

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

Oberflächen nicht zuletzt durch ihre starken naturbedingten Schwankungen für einen qualitativen Vergleich der Entladungsarten nicht geeignet sind. Da NH_4^+ auf dem unbehandelten SC-Modell nicht nachgewiesen wurde, konnte des Weiteren gezeigt werden, dass das SC-Modell das Verhalten menschlicher Haut nicht widerspiegeln kann.

5.5 Diskussion

Im Rahmen der reflektometrischen Messungen wurden ausgewählte biologisch relevante reaktive Spezies untersucht. Diese Spezies erreichen während der Plasmabehandlung die Hautoberfläche, auf welcher sie Folgereaktionen initiieren, antimikrobielle Eigenschaften aufweisen sowie Stoffwechselprozesse beeinflussen. Anhand der gemessenen Konzentrationen wurden Rückschlüsse auf den Einfluss der Anregungsart auf die Bildung der reaktiven Spezies sowie deren mögliche therapeutische Anwendungen gezogen. Darüber hinaus wurden durch den angestellten Vergleich Haut - SC-Modell weitere Aspekte bezüglich der Eignung des Modells beleuchtet.

Für die Beurteilung der Signifikanz der Messreihen muss die Genauigkeit der Methodik Berücksichtigung finden. Hierbei spielen zwei Aspekte eine Rolle, zum einen die plasmainduzierte gesteigerte Benetzbarkeit der Proben zum anderen Inhomogenitäten in der Entladung, welche zu systematischen und zufälligen Fehlern im Ergebnis führen.

Im Gegensatz zu den systematischen Fehlern, verursacht durch die gesteigerte Benetzbarkeit, sind die zufälligen Fehler in der Standardabweichung der Messergebnisse ersichtlich. Diese liegen begründet in dem filamentierten Zündverhalten der genutzten Entladungen sowie in der Oberflächenrauigkeit der Probenoberfläche. Auch die durch zahlreiche Einflussfaktoren induzierten bekannten natürlichen Schwankungen der biologischen Proben zeigen hier ihre Auswirkungen.

Für eine Abschätzung des systematischen Fehlers wurde die Benetzbarkeit der Proben im Anschluss an die Plasmabehandlung evaluiert. Es konnte eine Aktivierung der Oberflächen gezeigt werden, woraus ein Absinken der Kontaktwinkels und somit eine verbesserte Benetzbarkeit resultiert. Des Weiteren muss beachtet werden, dass gegebenenfalls nicht nur die Benetzbarkeit der Proben gesteigert wird, sondern auch die Wasserbeständigkeit der Substrate beeinflusst werden kann. Es ist denkbar, dass Analyten leichter aus der Probe bzw. dem Zellverband in Lösung übergehen können. Dieser Aspekt sollte im Besonderen bei der Betrachtung von Grenzwerten und Sicherheitsfragen beachtet werden. Darauf basierend wurden an dieser Stelle qualitative

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

Nachweise der Reagenzien, ohne Beurteilung von Absolutwerten, sowie eine zueinander relative Betrachtung der detektierten Konzentrationen für einen Vergleich der Plasmen durchgeführt.

Die ns-Quelle zeigt im Hinblick auf die NO_3 - und H_2O_2 -Konzentrationen eine effiziente Bildung reaktiver Spezies. Dieses Ergebnis zeigt eine gute Übereinstimmung mit den im Kap. 3.5 durchgeführten absorptionsspektroskopischen Messungen. Hier konnten auch die höchsten Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentrationen im Entladungsvolumen des ns-Plasmas gezeigt werden. Des Weiteren wird auch der in Kap. 4.5 dargestellte stärker ansäuernde Effekt der ns-Quelle durch die höheren Nitrat-Konzentrationen bestätigt. Dieses Ergebnis wird weiterhin untermauert durch aktuelle Studien, in denen die effizientere Wirkungen von Plasmen mit ns-Anregung auf Mikroorganismen gezeigt wurde [75, 90].

Ein weiterer deutlicher Unterschied in den Charakteristika der Plasmen wird ersichtlich bei Betrachtung der H_2O_2 -Konzentrationen. In beiden Studien (in-vitro und in-vivo) konnte bei Verwendung der μs -Quelle II kein Peroxid nachgewiesen werden, wohingegen bei Verwendung geringerer Leistungsdichten (μs -Quelle I) alle Messreihen positiv ausfallen sind. Eine Erklärung könnte die bei höheren Leistungsdichten überwiegende Bildung von Nitrosegasen (NO_x -Regime), bei geringeren Leistungsdichten die dominierende Bildung von Ozon und OH (Ozon-Regime) sein [38]. Hierfür würde die signifikant geringere Ozon-Konzentration sprechen, gemessen in der μs -Entladung mit höherer Leistung, jedoch konnte hinsichtlich der NO-Spezies kein eindeutiges Ergebnis erzielt werden (siehe Abb. 19).

In einer weiteren Versuchsreihe wurden Untersuchungen hinsichtlich der Eindringtiefe der plasmagenerierten reaktiven Spezies in die Haut angestellt. In diesem Rahmen wurden definierte Hautareale mit Plasma behandelt, von denen im Anschluss ein Lipid-Stripping entnommen wurde. Es erfolgte eine reflektometrische Messung der hier im Kapitel aufgeführten Substanzen sowie eine Bestimmung der pH-Wertes. Dabei wurden, unabhängig von der verwendeten Entladung und der durchgeführten Messreihe, keine signifikanten Konzentrationen im Anschluss der Plasmabehandlung festgestellt. Daher kann davon ausgegangen werden, dass die ca. $3\text{ }\mu\text{m}$ Abrissdicke (siehe Kap. 4.2) die Eindringtiefe der reaktiven Spezies in das SC übersteigt.

Bei weiterer Beurteilung des SC-Modells zeigen sich bei allen Messreihen signifikante Differenzen zu den sich einstellenden Konzentrationen auf Haut. Hier muss eine klare Einschränkung der in-vitro Messreihe formuliert werden. Der Lipidabriss ist für einen qualitativen Nachweis der Reagenzien, sowie für einen relativen Vergleich der verschiedenen Entladungsarten geeignet. Jedoch

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

kann auf Basis der in-vitro Messreihen weder das Verhalten menschlicher Haut vollständig abgebildet werden, noch kann die Einhaltung vorgegebener Grenzwerte diskutiert werden.

Nitrit, Peroxid und Ammonium wurden in einer vergleichbaren Größenordnung, im Bereich von 0-6 mg/l in Abhängigkeit von der verwendeten Entladungsart, detektiert. Die Nitrat-Konzentration übersteigt diesen Bereich um mehr als eine Größenordnung (15-120 mg/l). Dieses Ergebnis unterstreicht nochmals den dominierenden Einfluss des Stickstoffs in Luftplasmen. Der geringe Nitrit-Gehalt steht nicht im Gegensatz zu diesem Ergebnis, da von einer plasmainduzierten Oxidation des Nitrits zu Nitrat ausgegangen werden kann.

Die betrachteten NO_x-Spezies korrelieren direkt mit dem sich einstellenden kutanen pH-Wert, wodurch sie die Aktivität epidermaler Mikroorganismen regulieren, sowie zur Erhaltung der Integrität des SC beitragen. Peroxid wirkt als Neurotransmitter und übernimmt regulatorische Funktionen in der Wundheilung. In geringen Konzentrationen zeigt es antimikrobielle Eigenschaften; hohe Konzentrationen können Apoptose induzieren. Das Ammonium-Ion wirkt als Nervengift und bildet auf der Haut die Säure Ammoniak. Die sowohl positiven als auch negativen Effekte der vorgestellten reaktiven Spezies zeigen, dass auch an dieser Stelle gilt „*die Dosis macht das Gift*“. Durch die geringen vorliegenden Konzentrationen, sowie durch die effektive Barrierewirkung des SC, welche das darunterliegende lebende Gewebe effektiv abschirmt und großen Eindringtiefen der Spezies entgegenwirkt, wird an dieser Stelle von keiner schädigenden Wirkung ausgegangen.

Neben den bereits vorgestellten Spezies wurde auch eine reflektometrische Messreihe zur Auswirkung der Plasmatherapie auf den Milchsäuregehalt auf der Hautoberfläche durchgeführt (Messbereich 3,0-60,0 mg/l 1.16127.0001, Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland). Milchsäure kommt im humanen Organismus im Schweiß, Blut, Speichel sowie der Muskulatur vor und ist Bestandteil des Säureschutzmantels des SC [135]. Des Weiteren werden der Milchsäure hauterneuernde Eigenschaften durch die Induzierung eines beschleunigten Zellverlust ohne Beeinflussung der Barrierefunktion zugeschrieben [135, 136]. Die Wirksamkeit der Milchsäure ist direkt an den kutanen pH-Wert gekoppelt, wobei mit einem sauren Milieu eine gesteigerte Effizienz einhergeht [135]. Die Auswertung der Messreihen zeigt keine Signifikanz; jedoch kann von einer Tendenz hin zu höheren Konzentrationen nach der Plasmaapplikation, unabhängig von der verwendeten Entladungsart, gesprochen werden.

Basierend auf der Kenntnis der biologischen Wirkweisen der einzelnen reakti-

5 REFLEKTOMETRISCHE MESSUNGEN

ven Spezies können Therapiekonzepte unter Nutzung der Plasmatechnologie entwickelt werden. Somit kann durch eine indirekte Beeinflussung der Milchsäure durch den ansäuernden Effekt der Plasmabehandlung deren positive therapeutische Wirkung auf der Haut verstärkt werden. Dieser Effekt unterstreicht noch einmal die essentielle Wichtigkeit des Säureschutzmantels der Haut und verstärkt die Empfehlung, den pH-Wert als individuellen Parameter zur Anpassung der Plasmabehandlung heranzuziehen. Die generierten H_2O_2 -Spezies stellen einen möglichen Wirkmechanismus dar, wodurch u. a. der positive Einfluss der Plasmatherapie auf die Heilung chronischer Wunden erklärt werden kann. Durch den starken Einfluss der Anregungsart auf die Bildung dieser Spezies ist auch hier eine auf kalten Plasmen basierende individualisierte Therapie angepasst auf die jeweiligen Symptomatiken denkbar. Darüber hinaus kann der Effekt der Oberflächenaktivierung gewinnbringend genutzt werden, so kann eine verbesserte Benetzbarkeit der Haut beim Auftragen wässriger Lösungen erreicht werden.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass die zur Anregung der Entladung genutzten Pulsdauern und Spannungsamplituden einen signifikanten Einfluss auf die Charakteristika der Plasmen ausüben. Die Vielzahl biologisch wirksamer ROS und RNS, die in einer Luftentladung generiert werden, zeigen wiederum komplexe Wirkmechanismen auf und in der Haut. Synergieeffekte wurden bereits anhand verschiedener Effekte evaluiert [77]. So resultiert aus dem Zusammenwirken des ansäuernden Effekts durch NO_3 -Spezies, welcher einer erneuten Bakterienbesiedlung entgegen wirkt, der antimikrobiellen Eigenschaften des H_2O_2 sowie der Anregung der Proliferation durch NH_4 eine effiziente Förderung der Wundheilung. Jedoch kann die Wirkung des Plasmas nicht eindeutig einer einzelnen Komponente zugeordnet werden.

6 Spektroskopische Untersuchungen

Die Röntgenphotoelektronenspektroskopie, kurz XPS („*X-ray Photoelectron Spectroscopy*“) dient der qualitativen und quantitativen Analyse oberflächen-naher Schichten. Durch die Bestrahlung der Proben mit energiereicher Röntgenstrahlung und anschließender Detektion der emittierten Photoelektronen können Rückschlüsse auf die elementare Zusammensetzung sowie die vorliegenden Bindungszustände in der Probe gezogen werden. Hier kommt diese Technik zum Einsatz, um anhand von Übersichts- und Detailspektren die Zusammensetzung des SC zu evaluieren. Dabei erfolgt im Detail die Betrachtung des C1s, N1s, O1s sowie S2p Photoelektronenpeaks. Es werden Studien zu plasmainduzierten Änderungen vorgestellt, welche einen Vergleich der drei verwendeten Entladungsmodi umfassen. Darüber hinausgehend wird die Zusammensetzung des SC bei vorliegender FLG-Mutation studiert, um eventuelle krankheitsbedingte Veränderungen zu beleuchten.

6.1 Röntgenphotoelektronenspektroskopie

Die XPS-Technologie beruht auf dem Effekt der Photoionisation (äußerer Photoeffekt), welcher den Prozess der Elektronenemission aus einem Festkörper durch Bestrahlung der Probe mit hochenergetischen Photonen beschreibt. Voraussetzung hierfür ist eine genügend hohe Energie der einzelnen Photonen, um die Bindungsenergie E_B im Festkörper zu überwinden [137, 138]. Typische Röntgenquellen die hierbei zum Einsatz kommen sind die Al $K\alpha$ ($hf = 1486,6 \text{ eV}$) sowie die Mg $K\alpha$ ($hf = 1253,6 \text{ eV}$).

Die herausgelösten Photoelektronen besitzen eine charakteristische kinetische Energie E_{kin} für das Atom sowie für die chemische Bindung aus welcher sie entstammen. Unter Berücksichtigung eines gerätespezifischen Korrekturfaktors Φ , welcher die Austrittsarbeit des Spektrometers umfasst, kann die kinetische Energie der Photoelektronen durch nachfolgende Gleichung beschrieben werden [138]:

$$E_{\text{kin}} = h \cdot f - E_B - \Phi. \quad (29)$$

Die Informationstiefe einer XPS-Analyse ist durch die mittlere freie Weglänge λ_F der zu untersuchenden Photoelektronen im Festkörper begrenzt. Die zur Emission der Photoelektronen genutzte Röntgenstrahlung weist eine Eindringtiefe von 1 - 10 μm auf, allerdings tragen nur Elektronen, die ohne Energieverlust die Oberfläche erreichen, zu einem scharfen Peak im Spektrum bei. Daher werden mittels XPS Informationen aus einer dünnen, oberflächen-nahen Schicht gewonnen. Die Informationstiefe beträgt ca. 10 nm und ist ab-

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

hängig vom verwendeten Probenmaterial sowie von der kinetischen Energie der Elektronen [138].

Linientypen:

Es werden allgemein drei Linientypen unterschieden, welche in einem XPS-Spektrum detektiert werden können [137, 139]:

- i) Linien verursacht durch Photoemission sowie Auger-Serien,
- ii) Linien bedingt durch das Messverfahren unabhängig vom analysierten Probenmaterial, sowie
- iii) Linien verursacht durch das verwendete Messsystem.

Zu ersteren zählen die Photoelektronenlinien, welche im Spektrum als schmale Linien hoher Intensität auftreten und Informationen bezüglich der elementaren Zusammensetzung und vorliegenden Bindungszuständen der Probe enthalten [139]. Die Linienbreite ist gegeben durch die natürliche Linienbreite, bedingt durch die Lebensdauer der durch die Röntgenstrahlung hervorgerufenen Löcher in der Probe, sowie durch die Linienform der anregenden Röntgenstrahlung und einen instrumentellen Anteil, welcher das Auflösungsvermögen des Spektrometers umfasst [137, 140]. Die natürliche Linienbreite ist auf die Heisenbergsche Unschärferelation zurückzuführen und kann durch ein Lorentzprofil²³ beschrieben werden. Des Weiteren beeinflussen sich die Atome untereinander durch thermische Bewegung (Stoß- bzw. Druckverbreiterung), welche auch durch ein Lorentzprofil beschrieben werden kann [140]. Die gerätebedingte Verbreiterung wird durch den Analysator verursacht und weist ein Gauß-Profil²⁴ auf. Das Linienprofil eines Photoelektronenpeaks wird somit durch die Faltung eines Lorentz- mit einem Gauß-Profiles beschrieben, woraus das sogenannte Voigt-Profil resultiert [139, 140].

In Abb. 34 ist ein charakteristischer Verlauf eines XPS-Übersichtsspektrums gezeigt. Diese Spektren stellen einen Energiebereich von 0 eV bis ca. 1400 eV dar. Aufgetragen werden die Zählraten in Abhängigkeit der kinetischen Energie der Photoelektronen, welche wiederum in die vorliegenden Bindungsenergien im Festkörper umgerechnet werden. In diesen Spektren erfolgt somit die Identifizierung der beteiligten Elemente durch Zuordnung der charakteristischen Bindungsenergien. In Abb. 34 sind exemplarisch die C1s-, N1s- und O1s-Linien sowie die dazugehörigen Auger-Serien berücksichtigt worden.

²³In der Atomphysik genutzte mathematische Funktion zur Beschreibung der Form einer Spektrallinie.

²⁴Dient der mathematischen Beschreibung normalverteilter Zufallsgrößen

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

Der Auger- Effekt bezeichnet einen strahlungslosen Übergang innerhalb der Elektronenhülle eines angeregten Atoms. Hierbei wird ein Loch auf einer kernnahen Schale durch ein Elektron einer äußeren Schale besetzt. Die dabei freigesetzte Strahlung wird durch ein weiteres Elektron des selben Atoms absorbiert, welches dann als Auger-Elektron das Atom verlässt [137, 138]. Die Energie eines Auger-Elektrons hängt von dem am Prozess beteiligten Schalen ab, welche sich in der Bezeichnung der Serie widerspiegeln. Die wichtigsten im XPS-Spektrum zu beachtenden Linienserien sind die KLL, LMM, MNN und NOO Serien [138]. Der Anstieg des Hintergrundniveaus hin zu größeren Bindungsenergien nach jedem Photoelektronenpeak ist auf die Emission von Sekundärelektronen durch den Prozess der inelastischen Streuung in der Probe zurückzuführen [137, 138, 139].

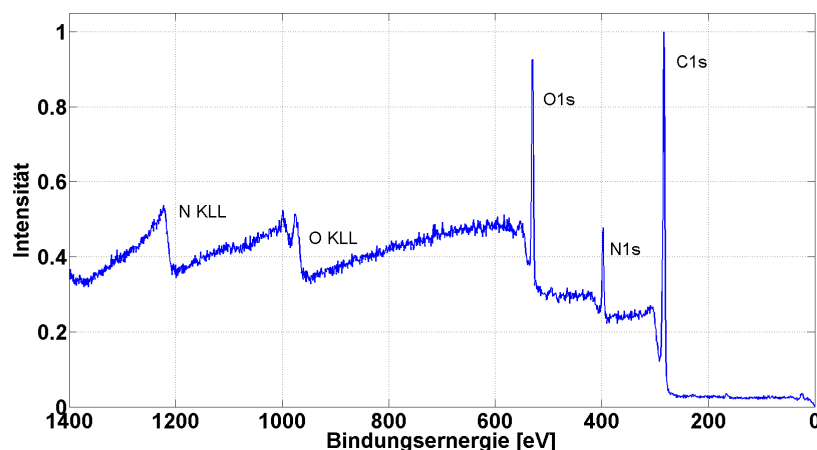


Abbildung 34: Exemplarisches XPS-Übersichtsspektrum einer plasmabehandelten Lipidprobe einschließlich C1s, N1s und O1s Photoelektronenpeaks sowie der KLL-Augerlinienserie.

Darüber hinaus können im Spektrum sogenannte Röntgensatelliten, verursacht durch eine nicht monochromatisierte Röntgenquelle, sowie Röntgen-Ghost-Lines, hervorgerufen durch Verunreinigungen im Anodenmaterial, entstehen. Des Weiteren können Shake-Up- bzw. Shake-Down-Linien, Multiplett-Aufspaltungen, Valenzlinien oder aber Energieverlustlinien auftreten [137, 139]. Da diese Effekte bei der weiteren Auswertung der Spektren keine Relevanz aufzeigen wird im Folgenden nicht näher auf die zu Grunde liegenden Mechanismen eingegangen.

Messsystem:

Die Bestandteile des genutzten XPS-Systems PHI Versa Probe II (Physical Electronics, Inc., Minneapolis, USA) sind neben dem im Ultrahochvakuum, kurz UHV, befindlichen Rezipienten, welcher der Probenaufnahme dient, eine Einheit zur Erzeugung und Monochromatisierung der Röntgenstrahlung sowie ein Analysator zur Detektion der Photoelektronen. Die zur Abrasterung der Probe verwendete charakteristische Röntgenstrahlung $\text{Al K}\alpha$ ($hf = 1486,6 \text{ eV}$) wird durch Bestrahlung einer Aluminiumanode mit energiereichen Elektronen generiert und weist eine spektrale Breite von $0,26 \text{ eV}$ auf. Zur Erzeugung des Elektronenstrahls wird ein LaB_6 ²⁵ Filament mit einer Beschleunigungsspannung von 20 kV verwendet. Als Monochromator der Röntgenstrahlung kommt ein Quarzkristall zum Einsatz [140]. Für die Analyse aller SC-Substrate wurde ein Spotdurchmesser der Röntgenstrahls von $200 \mu\text{m}$ verwendet.

Der Rezipient der Anlage wird durch ein zweistufiges System gepumpt, wodurch ein Druck von $< 10^{-8} \text{ Pa}$ erreicht wird [140]. Durch die Durchführung der Untersuchungen im UHV ergeben sich zwei wesentliche Vorteile: Zum einen wird die inelastische Streuung der signalgebenden Elektronen durch die resultierenden großen freien Weglängen vermieden, zum anderen wird der Verschmutzung der Probe durch sich an der Oberfläche anlagernder Stoffe (Adsorption) entgegengewirkt [137].

Für die Bestimmung der kinetischen Energien der Elektronen wird ein Halbkugelanalysator eingesetzt. Geladene Teilchen, welche die sogenannte Passenergie aufweisen, durchlaufen diesen ohne Beeinflussung und gelangen auf den Detektor. Zum Scannen über den gesamten Bereich der Bindungsenergien wird die Passenergie variiert, wodurch es aber zu einer Beeinflussung der Auflösung des Systems kommt. Daher wird hier mit einem Bremspotenzial am Eingang des Analysators gearbeitet, wodurch die Passenergie konstant gehalten werden kann und ein Auflösungsvermögen des gesamten Systems von $< 0,5 \text{ eV}$ erreicht werden kann. Die Berechnung der Bindungsenergie erfolgt auf Basis des Bremspotenzials und der Passenergie [140].

Proben:

Im Rahmen der hier vorgestellten Studie wurden SC-Modelle, gewonnen von gesunden Probanden untersucht; neben der Charakterisierung einer unbehandelten Referenz wurde durch Anwendung der drei Entladungsmodi ein Vergleich der Plasmaquellen realisiert. Die Stichprobe setzt sich aus zwei Probanden mit jeweils drei Proben zusammen, wodurch sich ein Stichprobenumfang von $n = 6$ ergibt. Darüber hinaus wurden Untersuchungen hin-

²⁵Lanthanhexaborid: anorganische Verbindung aus Lanthan und Bor

sichtlich des Einflusses einer FLG-Mutation (siehe Kap. 1.4) auf die Zusammensetzung des SC angestellt. In diesem Zusammenhang wurden Substrate, gewonnen von Jungmäusen mit vollständig charakterisierter FLG-Mutation (Linie: FlgHrnr-KO) mit und ohne vorige Plasmabehandlung, studiert. Zum Einsatz kam hier exemplarisch die μ s-Quelle I; als Referenz wurden Proben der Wildtypmauslinie C57BL/6 herangezogen. Als Stichprobe wurde auf drei Tiere, von denen jeweils drei Proben entnommen wurden, zurückgegriffen (Stichprobenumfang $n = 9$).

6.2 Spektrenanalyse

Die Auswertung eines Spektrums umfasst im Allgemeinen drei Punkte [137, 138]:

- i) Hintergrundkorrektur,
- ii) Anfitten der Detailpeaks sowie
- iii) Analyse der chemischen Bindungen.

Vor einer Auswertung muss der Shift des gesamten Spektrums verifiziert werden. Dieser kann beispielsweise durch Aufladungseffekte nichtleitender Proben verursacht werden, welche eine Verschiebung des Spektrums zu höheren Bindungsenergien bewirken [137, 138, 139, 140]. Für die Kompensation des Shifts dient hier als Referenz die bekannte Lage der C-C Bindung im C1s-Peak bei 284,8 eV.

Anschließend erfolgt die Hintergrundkorrektur, wofür an dieser Stelle die Näherung über die Shirley-Basislinie²⁶ angewendet wurde. Die berechnete Basislinie läuft durch die zuvor definierten Grenzen des Photoelektronenpeaks, außerhalb derer der Peak keinen signifikanten Beitrag zum Signal leistet [140, 141]. Die genutzten Grenzen wurden für jedes Spektrum individuell gesetzt.

Durch eine Integration der Flächen unterhalb der Peaks, welche in direktem Zusammenhang zu der Anzahl an Atomen im jeweiligen Bindungszustand stehen, wurden Rückschlüsse auf die prozentuale Zusammensetzung der Probe gezogen [137]. Es erfolgt die Analyse des Kohlenstoffpeaks C1s bei ~ 285 eV, die des Stickstoffpeaks N1s bei ~ 400 eV sowie die des Sauerstoffpeaks O1s bei ~ 532 eV. Darüber hinaus werden die Schwefelanteile

²⁶Die Shirley-Basislinie entspricht einer nichtlinearen Näherung der Untergrundes, wobei die Erhöhung des Hintergrundes durch inelastische Streuprozesse berücksichtigt wird.

der Substrate durch Auswertung des S2p-Peaks bei ~ 168 eV näher betrachtet. Hierbei werden relative Sensitivitätsfaktoren angewendet, welche unter anderem die Transmissionsfunktion sowie die Empfindlichkeit des Spektrometers, Wechselwirkungsquerschnitte der verschiedenen Elemente sowie Eindringtiefen der Röntgenstrahlung in die Probe umfassen. Letztere sind nur für reine Materialien bekannt, wodurch für die hier vorliegenden Mischproben ein geringer Fehler resultiert [138, 141]. Die Sensitivitätsfaktoren können Datenbanken entnommen werden und sind bereits in der genutzten Analysesoftware MultiPak (Version 9.6.0.15, 2015-02-19, Ulvac-phi, Inc., 1994 - 2014) hinterlegt [141].

Jedoch erfahren in diesem Formalismus zahlreiche Effekte keine Berücksichtigung. Hierzu gehören die Oberflächenrauigkeit, der begrenzte Raumwinkel des Analysators sowie elastische Streuprozesse der Photoelektronen. Letztere haben Einfluss auf die Analyse betreffende Parameter, u. a. die Winkelverteilung der Photoelektronen, den Shift des Spektrums oder aber die Analysetiefe und werden unter dem Begriff des Matrixeffektes zusammengefasst [142]. Es konnte, in Abhängigkeit der Ordnungszahl und Dichte des betrachteten Festkörpers, ein signifikanter Einfluss auf die Streukeule sowie auf die Intensität der Photoelektronenpeaks gezeigt werden, wodurch dieser Effekt in quantitativen XPS-Analysen als mögliche Fehlerquelle genannt werden muss [142]. Auf Grund der Vielzahl zu beachtender Parameter resultiert die Herausforderung eines quantitativen Vergleichs von Spektren verschiedener Messreihen. Für eine gute Reproduzierbarkeit der Messungen wurde mit einer konstanten Lichtleistung der Röntgenröhre von 50 W pro 200 μm Spotdurchmesser gearbeitet. Des weiteren ergibt sich aus der gewählten Spotgröße eine gute Statistik in der jeweiligen Einzelmessung. Die Positionen der Röntgenquelle, der Probe sowie des Detektors wurden während der Gesamtheit an Messungen konstant gehalten, wodurch die Winkelabhängigkeit der Photoelektronenemission nicht weiter zu beachten war. Darüber hinaus wurde das System so kalibriert, dass die minimale Auflösung des Detektors gemessen am Ag 3d 5/2 peak 0,45 eV beträgt. Dennoch sollte ein Fehler von 5 % des Messwertes berücksichtigt werden [137].

Peakfitting:

In einem Detailspektrum wird eine spektrale Breite von ca. 20 eV dargestellt. Die hochauflösende Betrachtung der Detailpeaks dient der Analyse der Bindungszustände der jeweiligen Elemente basierend auf dem sogenannten „*chemical shift*“ [137, 138]. Eine chemische Bindung, an welcher die Valenzelektronen eines Elementes beteiligt sind, führt zu einer Ladungsverschiebung und somit zu einer Verschiebung der Bindungsenergien der Rumpfelektronen von bis zu 10 eV [138]. Für die Identifizierung der Bindungszustände können

zum einen absolute Bindungsenergien zugeordnet werden, wofür als Voraussetzung das gesamte Spektrum in referenzierter Form vorliegen muss. Zum anderen kann der „*chemical shift*“ bezogen auf einen Referenzpeak angegeben werden. Letzteres findet in dieser Arbeit Anwendung; als Referenz dient wiederum die C-C Bindung im C1s Peak bei 284,8 eV.

Für Aussagen bezüglich der vorliegenden Bindungszustände wurden die Linienprofile der Detailpeaks angefitet. Verwendet wird hierzu das sogenannte Voigt-Profil, welches eine Überlagerung einer Gauß- mit einer Lorentzfunktion darstellt und definiert wird über die Angabe des jeweiligen Anteils [141]. Unter Beachtung der gaußschen Übertragungsfunktion des verwendeten Spektrometers, welche das Erscheinungsbild des Linienprofil dominiert, kann eine Rahmenbedingung bezüglich des Gauß-Anteils von 95 - 100 % des Voigt-Profiles gesetzt werden. Durch einen mathematischen Fit nach der Methode der kleinsten Quadrate erfolgt die Anpassung der Voigt-Profile an die Messwerte [141]. Den verschiedenen Voigt-Profilen innerhalb der Detailpeaks können nun wiederum die in der Probe vorliegenden Bindungszuständen zugeordnet werden, wodurch Informationen zu den prozentualen Anteilen gewonnen werden.

6.3 Vergleich des Einflusses der verwendeten Plasmen

Im Rahmen der Evaluierung plasmainduzierter Änderungen in der Haut wurde die elementare Zusammensetzung der SC-Modelle, gewonnen durch ein Lipidstripping an gesunden Probanden, untersucht. Hierbei wurde sowohl die Komposition unbehandelter Substrate, welche im Folgenden als Referenz dienen, als auch die Zusammensetzung der SC-Modelle nach Plasmaapplikation studiert. Zu diesem Zweck wurde der Kohlenstoff-, Stickstoff-, Sauerstoff- und Schwefelanteil der Substrate berechnet. In der nachfolgenden Tabelle 6 sind die Ergebnisse hinsichtlich der humanen Proben aufgelistet. Darüber hinaus sind in dieser Tabelle die, aus Literaturstellen entnommenen, erwarteten Zusammensetzungen für Hautfette und Proteine aufgeführt, welche der besseren Interpretation der Messdaten dienen [121, 143].

Es ist bereits bekannt, dass aus der Nutzung der Stripping-Methode zur Probenpräparation eine mit Lipiden bedeckte Substratoberfläche resultiert [121]. Der Effekt basiert auf Kohäsionsbrüchen innerhalb der Lipiddoppelschicht während der Probenentnahme. Diese Erkenntnis konnte durch die Zusammensetzung der unbehandelten SC-Oberfläche bestätigt werden; Proteine als Bestandteil der Kerneozyten zeigen verglichen mit Lipiden signifikante Unterschiede in der Zusammensetzung auf. Die berechnete Stöchiometrie der

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 6: Stöchiometrische Zusammensetzung der SC-Modellen mit und ohne vorige Plasmaapplikation sowie Literaturwerte zur Zusammensetzung von Proteinen [143] und Hautfetten [121].

	C1s [atom%]	N1s [atom%]	O1s [atom%]	S2p [atom%]
Referenz	$89,9 \pm 1,5$	$2,3 \pm 0,6$	$7,8 \pm 1,2$	-
μ s-Plasma I	$78,9 \pm 0,9$	$4,7 \pm 1,0$	$16,3 \pm 0,7$	$0,1 \pm 0,04$
μ s-Plasma II	$75,3 \pm 2,6$	$6,2 \pm 1,2$	$18,3 \pm 3,0$	$0,2 \pm 0,07$
ns-Plasma	$73,8 \pm 2,4$	$8,4 \pm 0,9$	$17,5 \pm 1,5$	$0,3 \pm 0,09$
Protein	59,9	23,0	17,1	k. A.
Lipid	90,9	0,23	8,5	k. A.

Referenz stimmt gut mit der für Hautfette erwarteten Komposition überein (siehe Tabelle 6).

Im Anschluss der Plasmabehandlung kann ein signifikant geringerer Kohlenstoffanteil sowie ein erhöhter Sauerstoff- und Stickstoffgehalt der Proben ermittelt werden, wobei die Ausprägung des Effektes abhängig von der jeweils verwendeten Entladungsart ist. Diese Ergebnisse zeigen eine gute Übereinkunft mit bisherigen Studien an organischen Materialien/Haut, in denen durch Luftplasmen vergleichbare Änderungen in der Stöchiometrie erreicht werden konnten [12, 144, 145].

Um Aussagen bezüglich der Unterschiede der einzelnen Entladungen zueinander treffen zu können, muss eine Abschätzung des Messfehlers erfolgen. Dieser setzt sich zusammen aus einem systembedingten Anteil, angegeben mit ca. 5 %, sowie den natürlichen Schwankungen der Substrate (als Standardabweichung der Messwerte in Tabelle 6 aufgeführt). Die stöchiometrischen Zusammensetzungen des SC im Anschluss der Plasmabehandlungen zeigen zueinander nur eine geringfügige, in der Größenordnung des Messfehlers liegende, Abweichung. Daher können keinen wesentlichen Unterschiede herausgearbeitet werden. Jedoch kann von der Tendenz ausgegangen werden, dass durch Anwendung der ns-Entladung die deutlichsten Änderungen in der elementaren Zusammensetzung hervorgerufen werden können. Die bereits gezeigte effektive Bildung reaktiver Spezies, durch die Nutzung kurzer Pulsdauern (siehe Kap. 3.5), steht in guter Übereinkunft mit diesem Ergebnis.

Allgemein können die beobachteten Veränderungen in der Stöchiometrie der Proben auf das Zusammenwirken folgender publizierter, plasmainduzierter Effekte zurückgeführt werden:

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

- i) Oxidation der Oberfläche durch Einlagerung von Sauerstoffradikalen sowie durch Bildung oxidierte Gruppen [12, 144],
- ii) Nitrierung und Nitrosierung der Oberfläche durch Integration von N-, N=O- und NO₂-Gruppen [144, 145], sowie
- iii) physikalische und chemische Feinstreinigung durch einen Abtrag oberflächlicher Fette [144, 146].

Im Folgenden wird die Auswertung der C1s-, N1s-, O1s- und S2p-Detailpeaks vorgestellt, auf deren Grundlage weiterführende Analysen möglicher Wirkmechanismen der Plasmabehandlungen auf den Verbund des SC diskutiert werden.

6.3.1 Kohlenstoff - C1s

Der Photoemissionspeak des Kohlenstoffs (1s-Orbital) ist im XPS-Spektrum in einem Bereich der Bindungsenergien von 282 eV bis 292 eV lokalisiert. Innerhalb des Peaks werden signalgebende C-C (284,8 eV), C-N (285,9 - 286,2 eV), C-O (286 - 286,5 eV), N-C=O (287,2 - 287,8 eV) sowie O-C=O (288,5 - 289,2 eV) Bindungen erwartet [12, 144, 147, 148]. Die Angaben über die Lage der einzelnen chemischen Bindungen des Kohlenstoffs dienen der Interpretation der Messdaten. Da die absoluten Bindungsenergien zahlreichen Einflussfaktoren und somit erheblichen Schwankungen unterworfen sind, werden im Folgenden die Positionen der jeweiligen chemischen Zustände des Kohlenstoffs im Spektrum relativ zueinander betrachtet.

In Abb. 35 (links) ist der Photoemissionspeak des Kohlenstoffs mit und ohne vorige Plasmaapplikation dargestellt. Es wird deutlich, dass die Beaufschlagung der Oberfläche mit Plasma zu der Ausbildung einer Schulter hin zu höheren Bindungsenergien führt. Dieser Effekt ist durch den Anstieg oxidierte Komponenten zu erklären [144, 145].

Des Weiteren sind zur Verdeutlichung der plasmainduzierten Änderungen in Abb. 35 (rechts) Differenzspektren dargestellt. Der Bereich der Abbildung mit positivem Verlauf kann C-N, C-O, N-C=O und O-C=O Bindungen zugeordnet werden, die negativen Werte im Differenzspektrum repräsentieren den signifikanten Rückgang an C-C Bindungen. In einem Vergleich der Plasmen zueinander zeigt sich, dass durch Anwendung von Pulsdauern im ns-Bereich der plasmainduzierte Effekt die stärkste Ausprägung aufweist. Im Detail kann eine maximale Abnahme des C-C Signals gezeigt werden. Darüber hinaus kann eine positive Struktur im Differenzspektrum, welche, im

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

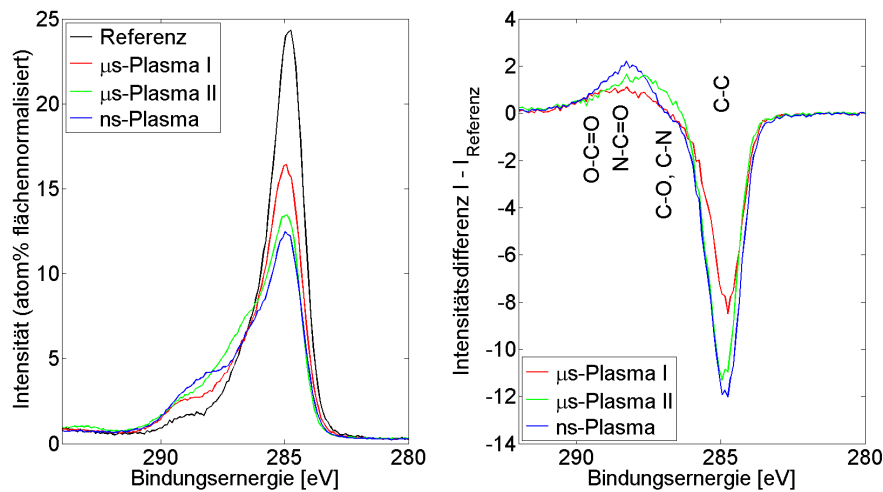


Abbildung 35: Links: C1s Detailpeak des SC beaufschlagt mit den verschiedenen Entladungsarten. Rechts: Differenzspektren des C1s-Peaks; Darstellung der Differenz zwischen plasmabehandeltem Substrat und Referenzprobe.

Vergleich zu den weiteren Entladungsarten, einen maximalen Shift zu höheren Bindungsenergien zeigt, aufgelöst werden. Die geringsten Änderungen wurden bei Anwendung der μs -Quelle I erreicht. Diese Ergebnisse entsprechen den Erwartungen, da die μs -Quelle I die geringste umgesetzte Leistung aufweist und die ns-Entladung die höchsten Konzentrationen reaktiver Spezies generiert.

Die plasmainduzierte Ausprägung einer Schulter im C1s-Peak hin zu höheren Bindungsenergien wurde bereits durch weitere Studien bestätigt. So wurden durch die Beaufschlagung einer Polypropylenoberfläche mittels Stickstoffplasmas zahlreiche Kohlenstoff-Sauerstoff- sowie Kohlenstoff-Stickstoff-Verbindungen nachgewiesen. Hierdurch wurden wiederum die oxidative Wirkung sowie die Integration von Stickstoffatomen durch die Plasmaapplikation bestätigt [145]. Darüber hinaus wurde auch durch Behandlung von Wollfasern sowie von SC-Substraten mittels Luftplasmen eine Reduzierung der C-C-Bindungen sowie ein Anstieg oxidativer Gruppen gezeigt [12, 144].

6.3.2 Stickstoff - N1s

Die Photoemission des in der Probe vorhandenen Stickstoffs (1s-Orbital) tritt im XPS-Spektrum in einem Bereich der Bindungsenergien von ca. 396 eV bis 404 eV auf: Signalgebende Anteile sind hierbei C-N Bindungen (397,8-

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

399,2 eV) sowie die Amidbindungen N-C=O (399,8 - 401,6 eV) [12, 145, 147]. Alle Angaben der Bindungsenergien sind bezogen auf die C-C Bindung des Kohlenstoffs als Referenz bei 284,8 eV. In der nachstehenden Abb. 36 ist der Verlauf des Stickstoffdetailpeaks präsentiert. Zur besseren Übersicht wurde an dieser Stelle eine Glättung der Messreihen durch einen gleitenden Mittelwert (Filterlänge 2) angewendet.

Aus der Berechnung der stöchiometrischen Zusammensetzung (siehe Tab. 6) folgt, dass alle verwendeten Entladungsarten zu einem signifikanten Anstieg des Stickstoffanteils führen. Im Vergleich der Plasmen mit μs -Anregung zeigt die μs -Quelle II, mit ihrer höheren im Entladungsspalt umgesetzte Leistung, eine stärkere Zunahme des Stickstoffgehalts. Da diese im Vergleich mit der μs -Quelle I mit einer geringeren NO-Konzentration im Plasmavolumen einhergeht (siehe Kap. 3.5.2), ist die Zunahme des Stickstoffanteils der Probe nicht alleinig durch die Nitrierung und Nitrosierung der Oberfläche zu erklären. Bei Betrachtung der ns-Entladung zeigt diese die größte Zunahme des oberflächlichen Stickstoffs. Dies entspricht aufgrund der hohen Konzentrationen reaktiver Stickstoffspezies den Erwartungen.

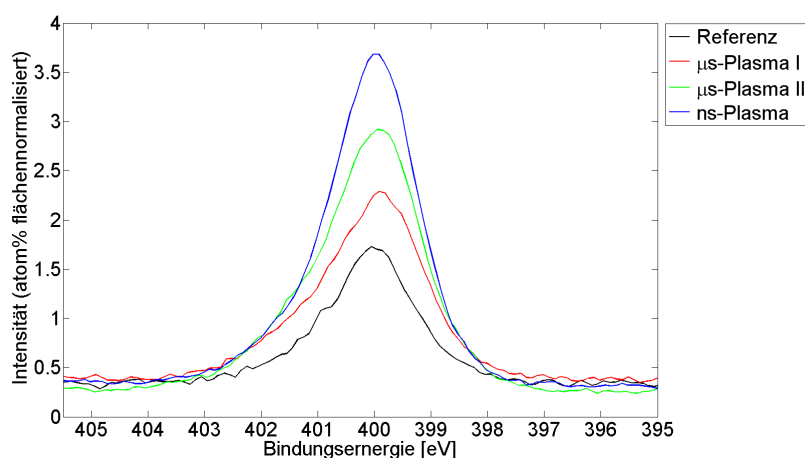


Abbildung 36: Detailspektrum des 1s-Orbitals des Stickstoffs einer SC-Probe mit und ohne vorige Plasmabehandlung.

Allgemein betrachtet kann der Anstieg im N1s-Peak nach der Plasmabehandlung zwei Ursachen haben: Zum einen können Stickstoffspezies in die Probe aufgenommen werden (Nitrierung bzw. Nitrosierung), zum anderen kann es zu einer Entfernung der oberflächlichen Lipide kommen, wodurch stickstoffreiche Proteine sichtbar werden [144]. In den Bestandteilen der Lipidmatrix ist der Stickstoffgehalt ausschließlich auf die Amidbindung der Ceramide zu-

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

rückzuführen [121]. Daher können durch den Intensitätsanstieg im Detailspektrum Rückschlüsse auf das Vorhandensein stickstoffreicher Proteinmoleküle gezogen werden, basierend auf dem 4-5-fach höheren Stickstoffgehalt in Proteinen im Vergleich zu den erwarteten Anteilen in Lipiden [148].

6.3.3 Sauerstoff - O1s

Der Detailpeak des 1s-Orbitals des Sauerstoffs liegt in einem Bereich der Bindungsenergien von ca. 529 eV bis 536 eV. Beteiligt an diesem Signal sind, bei der hier vorliegenden Mischprobe, O-C=O Bindungen aus Carboxylgruppen der Fett- und Aminosäuren (528,8-529,8 eV), N-C=O Amidbindungen der Proteine und Ceramide (531,3 eV) sowie C-O Verbindungen (532,3-532,8 eV) [12, 145]. Als Referenz für die Angabe der Bindungsenergien dient die bekannte Lage der C-C Bindung des Kohlenstoffs bei 284,8 eV. In Abb. 37 ist der Verlauf des hochaufgelösten Sauerstoffdetailspektrums dargestellt. Zur besseren Übersicht wurde an dieser Stelle eine Glättung der Messreihen durch einen gleitenden Mittelwert (Filterlänge 2) angewendet.

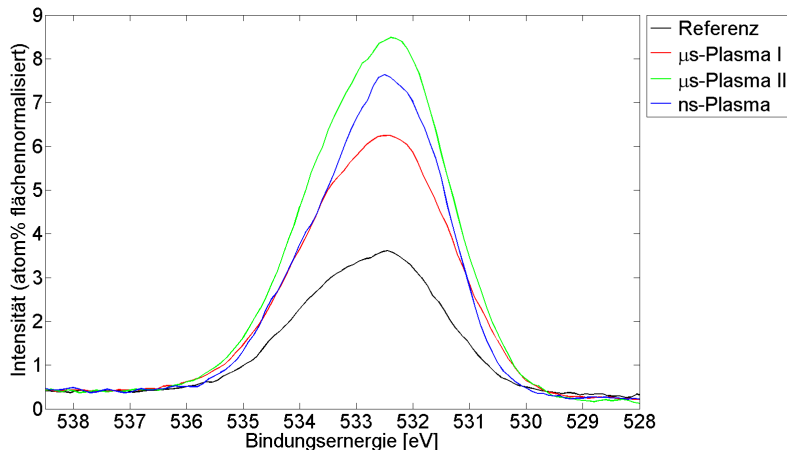


Abbildung 37: Detailspektrum des 1s-Orbitals des Sauerstoffs einer SC-Probe mit und ohne vorige Plasmabehandlung.

Wie aus Tab. 6 ersichtlich konnte ein plasmainduzierter Anstieg des Sauerstoffanteils nachgewiesen werden. Dieser Effekt ist durch die fortschreitende Oxidation der CH_x -Ketten in der Probe zu erklären [144]. Die Zunahme des Sauerstoffanteils scheint dabei nicht einer direkten Funktion der gemessenen Ozonkonzentrationen in den Entladungen zu entsprechen. Das

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

ns-Plasma zeigt trotz signifikant höherer O_3 -Konzentration (verglichen mit der μs -Anregung) nicht die stärksten Änderungen in der Stöchiometrie der SC-Substrate. Daher bestätigt auch die Analyse des Detailspektrums des Sauerstoffs die Überlagerung verschiedener plasmainduzierter Effekte.

Im Speziellen kann hier von einer Bildung zahlreicher oxidativer Spezies sowie von reinigenden Aspekten der Behandlung, wodurch Proteine mit ihrem - verglichen mit den Lipiden des SC - erhöhtem Sauerstoffgehalt sichtbar werden, ausgegangen werden [12, 144].

6.3.4 Schwefel - S2p

Als ein weiterer Effekt wurden geringe Mengen an Schwefel in den SC-Proben nach der Plasmabehandlung nachgewiesen (siehe Tabelle 6). In der unbehandelten Referenzprobe konnte der S2p-Detailpeak nicht eindeutig vor dem Hintergrund des Messsignalrauschens identifiziert werden (Daten nicht dargestellt). Schwefel liegt in der Haut in zwei Bindungszuständen vor, auf der einen Seite in Form des S^{IV} (Sulfate) als Komponente in Cholesterolsulfaten, auf der anderen Seite in Form des S^{II} , wie er in Disulfidbrücken als Bestandteil der Proteine zu finden ist [143]. Darüber hinaus wird davon ausgegangen, dass in der obersten Schicht der Haut S^{IV} auch durch oxidierte Disulfidbrücken detektiert wird, wodurch das Verhältnis S^{II}/S^{IV} in tieferen Schichten der Haut zunimmt [143].

In der nachfolgenden Abb. 38 ist beispielhaft ein Spektrum des S2p Detailpeaks nach Behandlung mittels ns-Entladung dargestellt. Der Anteil des Signals hin zu geringeren Bindungsenergien wird durch S-S bzw. S-C Bindungen verursacht und repräsentiert somit den Anteil an Disulfidbrücken in der Probenoberfläche. In der Literatur werden hierzu Bindungsenergien im Bereich von 163,5 eV bis 165,5 eV angegeben, referenziert auf die Lage des C-C Peaks bei 284,8 eV. Der zweite signalgebende Anteil entstammt aus Sulfat- bzw. aus oxidierten Sulfit-Bindungen und wird bei 168 - 170 eV erwartet [139, 143, 144]. Aufgrund der geringen Intensität des Signals wurde an dieser Stelle auf eine quantitative Analyse mittels Peakfitting verzichtet; die zu erwartende Dublett-Struktur des 2p-Orbitals ist nicht aufgelöst.

Im Anschluss der Plasmabehandlung wurden beide Bindungszustände des Schwefels nachgewiesen, wobei der Hauptanteil des Signals durch S^{IV} verursacht wird (siehe Abb. 38). Da davon ausgegangen werden kann, dass während der Plasmaapplikationen kein Schwefel in die Substrate eingebracht wird, kann dieser Effekt durch die Entfernung oberflächlicher Fette erklärt werden. Daraus resultierende freiliegende Korneozyten an der Probenober-

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

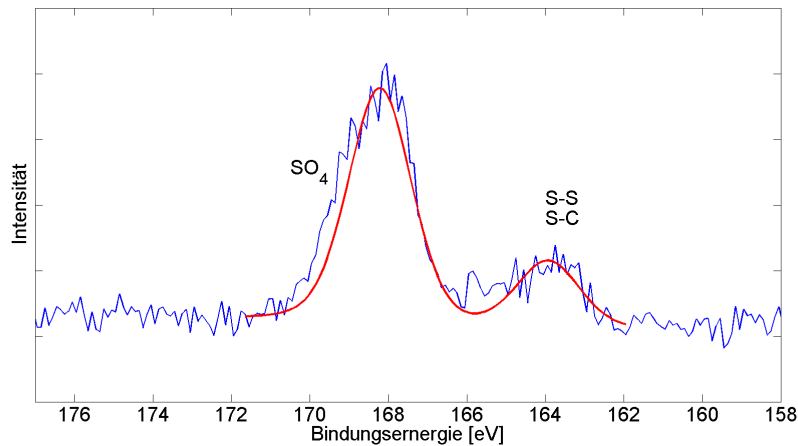


Abbildung 38: Schwefel 2p Detailpeak: SC-Substrat nach einminütiger ns-Plasmabehandlung.

fläche erhöhen den Anteil an signalgebenden Disulfidbrücken; durch den oxidierenden Effekt der Plasmabehandlung wurde hauptsächlich S^{IV} detektiert [144].

6.4 Lipidproben mit FLG-Mutation

Dieser Abschnitt der Arbeit umfasst die spektroskopischen Untersuchungen an SC-Modellen mit vorliegenden Mutationen im FLG-Gen. Als Referenz dieser Studien dienen Jungmäuse mit nachgewiesener FLG-Mutation. Es werden Vergleiche zwischen dieser Referenz sowie gesunden Jungmäusen einer Wildtyplinie angestellt, um etwaige krankhafte Veränderungen in der SC-Komposition zu beleuchten. Darüber hinaus werden Aussagen zu plasmainduzierten Änderungen, durch einen Vergleich unbehandelter und mittels μ s-Plasma I beaufschlagter Substrate, getätigt. In Tabelle 7 sind die entsprechenden Ergebnisse zusammengefasst.

Es ist bekannt, dass eine vorliegende FLG-Mutation mit einer Störung der Barrierefunktion sowie mit Veränderungen in der Ceramidkomposition des SC einhergeht. Im Detail wurde eine Verringerung des Ceramids IV sowie ein Anstieg des Ceramids VII bei FLG-Patienten nachgewiesen, welche mit Änderungen in der Stöchiometrie des SC einhergehen [19]. Im Rahmen der spektroskopischen Messreihen konnten jedoch keine signifikanten Unterschiede in der elementaren Zusammensetzung zwischen gesunden SC-Proben sowie

6 SPEKTROSKOPISCHE UNTERSUCHUNGEN

Tabelle 7: Atomare Zusammensetzung der SC-Modelle gewonnen von gesunden Jungmäusen (Wildtyp) sowie Jungmäusen mit FLG-Mutation mit und ohne vorige Plasmabehandlung.

	C1s [atom%]	N1s [atom%]	O1s [atom%]	S2p [atom%]
Referenz	$87,1 \pm 2,6$	$3,2 \pm 1,0$	$9,7 \pm 1,6$	-
Wildtyp	$86,0 \pm 3,6$	$3,7 \pm 1,6$	$10,3 \pm 2,0$	-
μ s-Plasma I	$81,7 \pm 4,0$	$4,4 \pm 1,8$	$13,8 \pm 2,5$	$0,1 \pm 0,05$

SC-Substraten mit FLG-Mutation gezeigt werden. Daher muss an dieser Stelle davon ausgegangen werden, dass die angewendete XPS-Technologie nicht die benötigte Sensitivität zur Detektion krankhafter Veränderungen aufweist. Der Vergleich der SC-Komposition gesunder Wildtypmäuse mit derer gesunder Probanden zeigt eine gute Übereinstimmung in der Stöchiometrie (siehe Tabelle 6). Dieses Ergebnis entspricht den Erwartungen, da Mausmodelle aufgrund ihrer für den Menschen repräsentativen Hautzusammensetzung in zahlreichen dermatologischen Studien Anwendung finden [68, 99]. Des Weiteren sind auch die plasmainduzierten Änderungen auf gesunder sowie erkrankter Haut in einer vergleichbaren Größenordnung. Somit können an dieser Stelle keine Aussagen zu speziellen Wirkweisen der Plasmatherapie auf erkrankter Haut getroffen werden.

6.5 Diskussion

Die Interpretation der Daten ist aufgrund der untersuchten Mischproben mit ihrer Vielzahl an vorhandenen Komponenten nicht trivial, daher wurde auf eine Analyse der Detailspektren durch Peakfitting verzichtet. Bei Kenntnis über die stöchiometrische Zusammensetzung ist dieses Vorgehen empfehlenswert. Die studierten Substrate sind hingegen Mischproben, deren Zusammensetzung auf Fettsäuren, neun Klassen an Ceramiden, Cholesterol und seinen Derivaten sowie den 20 proteinogenen Aminosäuren basiert. Von einem festen Mischungsverhältnis kann aufgrund der biologisch und örtlich bedingten Schwankungen nicht ausgegangen werden.

Weitere Einschränkungen in der Interpretation der Messdaten ergeben sich aus der Exposition plasmabehandelter Substrate mit Umgebungsluft im Vorfeld der spektroskopischen Messung. Diese kann zu einer Verunreinigung der Probenoberfläche durch Anlagerungsprozesse sowie zu einer weiteren Oxidation dieser führen. Durch eine Integration der Plasmabehandlung direkt in das Spektroskopiesystem wie es in [145] realisiert wurde, könnten oxidierte

Gruppen eindeutig plasmainduzierten Effekten zugeordnet werden. Weitere Verunreinigungen der Probenoberfläche durch aromatische Kohlenwasserstoffe, wie sie in zahlreichen Pflegeprodukten enthalten sind, können hingegen eindeutig im C1s-Detailspektrum identifiziert werden. Aromaten zeigen eine charakteristische Shake-Up Struktur, welche im Spektrum links neben dem C1s-Signal hin zu geringeren Bindungsenergien auftritt [139]. Da diese in keinem der untersuchten Substrate detektiert werden konnte, wird von keiner Beeinflussung der SC-Substrate durch Pflegeprodukte ausgegangen.

Eine weitere potenzielle Fehlerquelle ist die Referenzierung der Bindungsenergien auf die bekannte Lage der C-C Bindung im C1s-Detailspektrum. Dieser Peak ist, durch die plasmainduzierte Ausbildung einer Schulter, in seiner Form erheblichen Änderungen unterworfen, welche wiederum zu Unsicherheiten in der Referenzierung führen. Eine mögliche Alternative, welche in XPS-basierten Studien zu plasmainduzierten Änderungen Anwendung findet, stellt der S2p-Peak dar [144]. Da jedoch kein signifikanter Schwefelanteil in den unbehandelten Substraten nachgewiesen werden konnte, kann auf diese Referenz hier nicht zurückgegriffen werden.

In einer von M. Bahl durchgeführten XPS-basierten Studie wurden sowohl die Innen- als auch die Außenseite des SC evaluiert, wobei erstere einen Anteil von 87,7 % Kohlenstoff, 9,9 % Sauerstoff und 1,2 % Stickstoff aufweist [143]. Die Zusammensetzung der Innenseite des SC zeigt eine gute Übereinstimmung mit der in Tabelle 6 präsentierten Komposition der unbehandelten Referenzprobe. Da, bedingt durch die Probenentnahme, auch hier die Innenseite des SC die studierte Probenoberfläche darstellt, bestätigt diese Studie die durchgeführten Messungen.

Im Anschluss an die Plasmabehandlung zeigen die untersuchten Substrate eine vergleichbare Stöchiometrie zu mittels Lösungsmitteln (Tensiden) behandelten SC-Proben [147]. Im Detail wurde in [147] die Außenseite einer invasiv entnommenen SC-Probe mit Natriumlaurylsulfat beaufschlagt, durch die daraus resultierende Lösung der oberflächlichen Fette konnte eine Zusammensetzung des Substrats mit erhöhtem Sauerstoff- und Stickstoff- sowie verringertem Kohlenstoffanteil (73,4 % C, 15 % O und 8,3 % N) detektiert werden [147]. Aus dem Kohlenstoff/Sauerstoff Verhältnis in Kombination mit dem Stickstoffanteil der Proben wurden Aussagen über den Oberflächenfettgehalt getätigt. Somit kann eine Entfernung von Fetten auf der Probenoberfläche durch einen steigenden Stickstoffanteil - gleichbedeutend mit einem ansteigenden Proteingehalt - gezeigt werden, wenn eine zeitgleiche Einlagerung von Sauerstoff- und Stickstoffatomen in die Oberfläche ausgeschlossen werden kann [143].

Durch kalte Plasmen können im Besonderen organische Verbindungen durch

chemische und physikalische Reinigungsprozesse von Oberflächen entfernt werden. Die chemische Reinigung basiert unter anderem auf der Wechselwirkung von Sauerstoffatomen mit der Probenoberfläche. Die physikalische Reinigung beruht auf einer mechanischen Abtragung der Oberfläche durch Ionenbeschuss bzw. durch Elektronensputtern [144, 146].

In Marschweski et al. wurde eine der μ s-Quelle I ähnliche Entladung, mit vergleichbaren Parametern, zur Behandlung von SC-Modellen verwendet. Die im Anschluss der Plasmaapplikation detektierte Stöchiometrie der Substrate bestätigt die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Daten. Im Detail wurde die plasmainduzierte Zunahme der C-O Bindungen sowie die Abnahme der C-C Bindungen präsentiert, welche auf das Aufbrechen der Kohlenstoffketten und die Einlagerung von Sauerstoffradikalen während der Plasmabehandlung zurückgeführt wurden. Eine Abtrag oberflächlicher Fette wurde in dieser Studie nicht in Betracht gezogen [12].

Des Weiteren zeigen die hier dargestellten Ergebnisse eine gute Übereinstimmung mit den bereits aus Einzelapplikationen bekannten Wirkmechanismen der biologisch aktiven Plasmakomponenten (siehe Kap. 2.2). Änderungen auf molekularer Ebene werden insbesondere durch reaktive Sauerstoff- und Stickstoffspezies, sowie durch die Exposition mit UV-Strahlung hervorgerufen. Allgemein betrachtet verursachen reaktive Spezies oxidativen sowie nitrosativen Stress, welcher sich in dem SC durch eine Lipid- und Proteinoxidation manifestiert [28]. Ozon, als wichtiger Vertreter der ROS, wechselwirkt im speziellen mit ungesättigten C=C-Doppelbindungen, oxidiert diese oder wird in Form des stabileren Ozonides in diese eingebaut [28, 50]. Im Fall der UV-induzierten molekularen Änderungen handelt es sich um einen indirekten Effekt. Durch die Freisetzung interzellulärer reaktiver Spezies entstehen Brüche in Kohlenstoffketten sowie oxidierte Gruppen an ungesättigten Lipiden [61]. Diesem Effekt wird jedoch aufgrund der geringen Intensität der UV-Strahlung, bemessen an vorliegenden Grenzwerten zur Vermeidung negativer Effekte, nur eine geringfügige Nebenrolle zugeschrieben.

Bei Beurteilung der Oberfläche im Anschluss an eine Plasmabehandlung, sind die plasmainduzierten Änderungen in der Stöchiometrie des SC zurückzuführen auf eine Überlagerung dreier verschiedener Wirkmechanismen: (i) Oxidation, (ii) Nitrierung bzw. Nitrosierung sowie (iii) Entfettung. Dieses wurde sowohl durch die Probenzusammensetzung als auch durch die Analyse der Detailspektren mit und ohne vorige Plasmabehandlung bestätigt. Da die betrachteten Substratoberflächen einen hohen Fettanteil aufweisen, werden die bereits publizierten, entfettenden Eigenschaften der Plasmabehandlung durch die spektroskopischen Untersuchungen bestätigt [144]. Durch einen Abtrag der Hautfette können die in der kutanen Lipidmatrix eingebetteten Kor-

neozyten detektiert werden. Diese Protein enthaltenden toten Hornzellen weisen neben einem erhöhten Sauerstoff- und Stickstoffgehalt auch einen nicht zu vernachlässigenden Schwefelanteil auf. Daher bestätigt explizit der positive Nachweis des Schwefels im Anschluss einer Plasmabehandlung die These der Entfettung der Oberfläche. Für eine detailliertere Analyse der Wirkmechanismen ist die Evaluation der makromolekularen Zusammensetzung der Substrate durch z. B. Infrarot-Spektroskopie zu empfehlen [149]. Hierdurch könnte eine differenzierte Betrachtung der Effekte, sowie eine genauere Analyse der verschiedenen Wirkweisen der einzelnen Entladungsarten realisiert werden.

Bezug nehmend auf den therapeutischen Einsatz der untersuchten Plasmen sind aus der Interpretation der Messdaten zwei wesentliche Erkenntnisse aufzuführen, welche auf den reinigenden Eigenschaften der Luftplasmen basieren. Dieser Effekt kann in der Therapie zur Modifizierung der hydrophoben Eigenschaften der Haut, welche durch die oberflächliche Belegung mit Lipiden resultieren, genutzt werden [144]. Hierdurch ist eine verbesserte Benetzbarkeit der Oberfläche sowie eine erhöhte Wirkstoffaufnahme durch oberflächlich aufgebrachte Lösungen denkbar. Allerdings ist die Notwendigkeit von Lipiden auf der Hautoberfläche für die Barrierewirkung hinlänglich bekannt. Durch eine partielle Entfernung der Hautfette konnten erhebliche Einschränkungen dieser Funktion hervorgerufen werden. In Anbetracht dieses Effektes ist die Entfernung oberflächlicher Lipide durch eine Plasmaapplikation als kritisch zu betrachten. Jedoch konnte gezeigt werden, dass nach Wiederhinzugabe der Lipide eine Wiederherstellung der Barrierewirkung erzielt werden kann [143]. Daher ist von keiner dauerhaften Schädigung der Hautbarriere durch eine plasmainduzierte Entfettung auszugehen.

7 Zusammenfassung und Ausblick

Die hier vorliegende Dissertation ist thematisch in das interdisziplinäre Feld der Plasmamedizin einzuordnen und basiert auf der Anwendung dielektrisch behinderter Entladungen in dermatologischen Studien. Das Untersuchungsobjekt der Arbeit stellt das *Stratum corneum*, im Folgenden kurz SC genannt, dar, welches als oberste Hautschicht den Fokus plasmainduzierter Änderungen in der dermatologischen Therapie darstellt. In einem ersten Schritt wurde die sogenannte Stripping-Methode zur nicht-invasiven Herstellung von SC-Modellen angewendet. Im Folgenden wurden die resultierenden SC-Substrate validiert hinsichtlich ihrer Eignung als in-vitro Modell in plasmamedizinischen Studien. Der gezielte Vergleich plasmainduzierter Effekte auf Haut und SC - die Probenerwärmung, ansäuernde Effekte und Wechselwirkung mit UV-Strahlung umfassend - sowie eine Beurteilung der Struktur und Dicke des Abrisses, erlauben das Fazit einer guten Anwendbarkeit des SC-Modells zur Analyse oberflächlicher Prozesse. Einschränkungen ergeben sich aufgrund der Orientierung des SC auf dem Probenträger sowie in der Nachbildung von Signal- und Stoffwechselprozessen.

In den nachfolgenden Untersuchungen diente das in-vitro SC-Modell als Genelektrode im Setup der verwendeten Barriereentladungen. Angewendet wurden drei Entladungsarten, gezündet in Umgebungsluft bei Atmosphärendruck, wobei zur Anregung der Plasmen Pulsdauern im μs - und ns-Bereich genutzt wurden. Durch eine detaillierte Charakterisierung der Plasmen hinsichtlich derer Elektronen-, Vibrations- und Rotationstemperatur, UV-Emission, umgesetzten Leistung und Konzentrationen reaktiver Spezies im Entladungsspalt wurden Stellgrößen zur Parametrisierung der biologisch wirksamen Plasmakomponenten identifiziert. Als mögliche Stellgrößen wurden hierbei die Pulsdauer sowie die Amplitude der anregenden Hochspannungspulse betrachtet. Im Detail konnten bei Verwendung von Pulsdauern im ns-Bereich - verglichen mit Pulsdauern im μs -Bereich - eine effizientere Generierung reaktiver Spezies, sowie eine intensitätsstärkere Emission im UV-Bereich gezeigt werden (siehe Tabelle 8).

In Ergänzung hierzu wurden auch die während der Plasmabehandlungen auf der SC-Substratoberfläche gebildeten Spezies analysiert, auf deren Basis der Vergleich der verschiedenen Entladungsarten weitergeführt wurde. Hierbei wurden Nitrit-, Nitrat-, Wasserstoffperoxid- sowie Ammonium-Verbindungen untersucht. Auch hier konnte ein signifikanter Einfluss der Anregungsart festgestellt werden; die höchsten Spezieskonzentrationen wurden bei Anwendung der ns-Entladung gemessen. Auffällig erscheint die Generation der Peroxid-Spezies, da diese bei Nutzung von Pulsdauern im μs -Bereich in Kombination mit hohen Spannungsamplituden nicht nachgewiesen wurde (siehe Tabelle 8).

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Tabelle 8: Gegenüberstellung der Entladungsarten; signifikante Unterschiede in den Plasmaparametern sowie in den Effekten auf der Substratoberfläche umfassend (-/- nicht nachweisbar, * geringer Effekt / Betrag, ** mittlerer Effekt / Betrag, *** hoher Effekt / Betrag).

	µs-Quelle I	µs-Quelle II	ns-Plasma
Entladungsbild	stark filamentiert	fein filamentiert	quasihomogen
Leistungsdichte	*	***	***
UV-Emission	*	**	***
Ozon-Konzentration ²⁷	*	*	***
Stickstoffmonoxid-Konzentration ²⁷	**	*	***
Nitrat-Konzentration ²⁸	*	**	***
Wasserstoffperoxid-Konzentration ²⁸	*	-/-	***
Elementare Zusammensetzung SC	*	**	***

Durch die zahlreichen bekannten Funktionen des Peroxids in der Haut konnte hierdurch eine wichtige Stellgröße für die Individualisierung der Plasmatherapie aufgezeigt werden.

In abschließenden XPS-basierten Studien wurde der Einfluss einer Plasma-behandlung auf die chemische Zusammensetzung des SC beleuchtet. Durch die Analyse des Kohlenstoff-, Stickstoff-, Sauerstoff- sowie Schwefelanteils der Substrate wurden neben der prozentualen Komposition auch die im Substrat vorliegenden Bindungszustände identifiziert. Auf dieser Grundlage konnten drei Effekte der Plasmen in bzw. auf dem SC gezeigt werden: (i) Eine Oxidation der Oberfläche durch Einlagerung von Sauerstoff sowie durch Bildung oxidierten Gruppen, (ii) eine Nitrierung und Nitrosierung der Oberfläche durch Integration von Stickstoff-Gruppen sowie (iii) eine chemische und physikalische Reinigung durch einen Abtrag oberflächlicher Fette.

In der Oberfläche des SC manifestieren sich diese Effekte durch einen signifikanten Rückgang des Kohlenstoffanteils, sowie einen Anstieg des Stickstoff-, Sauerstoff- und Schwefelanteils. Unterschiede zwischen den verwendeten Entladungsarten liegen im Bereich der Messunsicherheit, dennoch kann von der

²⁷im Entladungsvolumen

²⁸auf Substratoberfläche

7 ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Tendenz ausgegangen werden, nach welcher das ns-Plasma den ausgeprägtesten Effekt auf dem SC ausbildet (siehe Tabelle 8).

Allgemein müssen bei der Abschätzung möglicher Wirkweisen kalter Plasmen auf die menschliche Haut folgende Punkte Beachtung finden:

- i) Die Haut ist ein sehr komplexes Organ, welches vielfältige Aufgaben übernimmt. Hierbei ist das Zusammenspiel zahlreicher Aspekte wie die hohe strukturelle Organisation, die Aufrechterhaltung von Gleichgewichten durch homöostatische Prozesse oder aber die Steuerung von Stoffwechselprozessen durch Signalmoleküle notwendig,
- ii) Luftplasmen sind eine Cocktail biologisch wirksamer Komponenten, die zeitlich parallel auf die Hautoberfläche einwirken; Synergieeffekte wurden bereits nachgewiesen und
- iii) die Eindringtiefe einer Plasmabehandlung in die Haut ist nicht hinlänglich geklärt; auch indirekte Wirkungsmechanismen sind mit in Betracht zu ziehen.

Im Hinblick auf zukünftige Studien, wurde in dieser Arbeit ein in-vitro Lipidsystem entwickelt, welches in erster Instanz zur Evaluierung von Plasmaquellen hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit in der dermatologischen Anwendung genutzt werden kann. Basierend auf diesem Modell, konnte das große Potenzial des ns-Plasmas, ohne die Notwendigkeit klinischer in-vitro Studien, gezeigt werden. Darüber hinaus wurde durch eine Formulierung von Grenzwerten bezüglich der Behandlungsdauer sowie eines minimalen Abstandes zu den Atemwegsorganen eine Risikoanalyse durchgeführt.

Daraus ergibt sich nun die Herausforderung der Entwicklung eines zulassungsfähigen Medizinproduktes, wobei es explizit die, mit der Anregung durch ns-Pulse einhergehende, Problematik hoher elektromagnetischer Felder zu lösen gilt. Hier ist das eng verzahnte Zusammenspiel von Forschung und Industrie gefragt, wobei auch die Zulassungsstelle für Medizinprodukte in Verantwortung zu nehmen ist.

Daher kann die Plasmamedizin als zukunftssträchtiges Forschungsfeld betrachtet werden. Allerdings sind für einen personalisierten und bestmöglichen Einsatz dieser Technologie noch zahlreiche weiterführende Studien notwendig. Darüber hinaus ist ein bewusster und verantwortungsvoller Einsatz dieser Technologie durch die damit einhergehenden, dosisabhängigen toxischen Eigenschaften der Applikation notwendig.

Literatur

- [1] Robert Koch-Institut (Hrsg): „Neurodermitis. Faktenblatt zu KIGGS Welle 1: Studie zur Gesundheit von Kindern und Jugendlichen in Deutschland - Erste Folgebefragung 2009 - 2012“ **2014**, RKI, Berlin
- [2] Langen U., Schmitz R. und Steppuhn H.: „Häufigkeit allergischer Erkrankungen in Deutschland“ **2013**, *Bundesgesundheitsblatt* 56, 698-706
- [3] Fridman G., Friedman G., Gutsol A., Shekhter A. B., Vasilets V. N. und Fridman A.: „Applied plasma medicine“ **2008**, *Plasma Processes and Polymers*, 5, 503-533. - doi:10.1002/ppap.200700154
- [4] von Woedtke T., Reuter S., Masur K. und Weltmann K.-D.: „Plasmas for medicine“ **2013**, *Physics Reports*, 530, 291-320. - doi:10.1016/j.physrep.2013.05.005
- [5] Heuer K., Hoffmanns M. A., Demir E., Baldus S., Volkmar C. M., Roehle M., Fuchs P. C., Awakowicz P., Suschek C. V. und Oplaender C.: „Non-Thermal Dielectric Barrier Discharge (DBD) Effects on Proliferation and Differentiation of Human Fibroblasts Are Primary Mediated by Hydrogen Peroxide“ **2015**, *Nitric Oxide*, 44, 52-60. - doi:10.1016/j.niox.2014.11.015
- [6] Isbary G., Morfill G., Schmidt H. U., Georgi M., Ramrath K., Heinlin J., Karrer S., Landthaler M., Shimizu T., Steffes B., Bunk W., Monetti R., Zimmermann J. L., Pompl R. und Stolz W.: „A first prospective randomized controlled trial to decrease bacterial load using cold atmospheric argon plasma on chronic wounds in patients“ **2010**, *British Journal of Dermatology*, 163, 78-82. - doi:10.1111/j.1365-2133.2010.09744.x
- [7] Helmke A., Hoffmeister D., Mertens N., Emmert S., Schuette J. und Viöl W.: „The acidification of lipid film surfaces by non-thermal DBD at atmospheric pressure in air“ **2009**, *New Journal of Physics*, 11, 115025. - doi:10.1088/1367-2630/11/11/115025
- [8] Hirschberg J., Omairi T., Mertens N., Helmke A., Emmert S. und Viöl W.: „Influence of excitation pulse duration of dielectric barrier discharges on biomedical applications“ **2013**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 46, 165201. - doi:10.1088/0022-3727/46/16/165201
- [9] Peters F., Hirschberg J., Mertens N., Wieneke S. und Viöl W.: „Comparison of Nitric Oxide Concentrations in μ s- and ns-Atmospheric Pressure

LITERATUR

- Plasmas by UV Absorption Spectroscopy“ **2016**, *Plasma Science and Technology*, 18, 406-411. - doi:10.1088/1009-0630/18/4/13
- [10] Hirschberg J., Gerhard C., Braun A., Grottker S., Krupp A., Emmert S. und Viöl W.: „Validation of the Suitability of Stripped Lipid as a Skin Model in Plasma Medical Investigations“ **2015**, *Open Journal of Applied Sciences*, 5, 40-49. - doi:10.4236/ojapps.2015.52005
- [11] Hirschberg J., Loewenthal L., Krupp A., Emmert S. und Viöl W.: „Plasma Induced Changes in Human Lipid Composition as Revealed through XPS-Analysis“ **2016**, *Natural Science*, 8, 125-137. - doi:10.4236/ns.2016.83016
- [12] Marschewski M., Hirschberg J., Omairi T., Höfft O., Viöl W., Emmert S. und Maus-Friedrichs W.: „Electron spectroscopic analysis of the human lipid skin barrier: cold atmospheric plasma-induced changes in lipid composition“ **2012**, *Experimental Dermatology*, 21, 921-925. - doi:10.1111/exd.12043
- [13] McGrath J. A., Eady R. A. J. und Pope F. M.: „Anatomy and Organization of Human Skin“ in „Rook’s Textbook of Dermatology, Seventh Edition“ **2004**, Blackwell Publishing, Inc., Malden, Massachusetts, USA. - doi:10.1002/9780470750520.ch3
- [14] Heinrich P. C., Müller M. und Graeve I. (Hrsg.): „Löffler/ Petrides Biochemie und Pathobiochemie“ 9. Auflage **2014**, Springer Medizin Verlag Heidelberg, Deutschland. - ISBN:978-3-642-17971-6
- [15] Velan Skincare GmbH, **2016**, <http://www.velanskin.com/unsere-haut> (aufgerufen am 14.04.2016)
- [16] Jungersted J. M., Hellgren L. I., Jemec G. B. E. und Agner T.: „Lipids and skin barrier funktion - a clinical perspective“ **2008**, *Contact Dermatitis*, 58, 255-262. - doi:10.1111/j.1600-0536.2008.01320.x
- [17] Schmid-Wedtner M.-H. und Korting H.C.: „The pH of the skin surface and its impact on the barrier function“ **2006**, *Skin Pharmacology and Physiology*, 19, 296-302. - doi:10.1159/000094670
- [18] Pons-Guiraud A.: „Dry skin in dermatology: a complex physiopathology“ **2007**, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology*, 21, 1-4. - doi:10.1111/j.1468-3083.2007.02379.x

LITERATUR

- [19] Jungersted J. M., Scheer H., Mempel M., Baurecht H., Cifuentes L., Høgh J. K., Hellgren L. I., Jemec G. B. E., Agner T. und Weidinger S.: „Stratum corneum lipids, skin barrier function and filaggrin mutations in patients with atopic eczema“ **2010**, *Allergy*, 65, 911-918. - doi:10.1111/j.1398-9995.2010.02326.x
- [20] Eberlein-König B., Schäfer T., Huss-Marp J., Darsow U., Möhrenschrager M., Herbert O., Abeck D., Krämer U., Behrendt H. und Ring J.: „Skin surface pH, stratum corneum hydration, trans-epidermal water loss and skin roughness related to atopic eczema and skin dryness in a population of primary school children: clinical report“ **2000**, *Acta Dermatology-Venerology*, 80, 188-191. - doi:10.1080/000155500750042943
- [21] Houben E., Paepe K. De und Rogiers V.: „A Keratinocyte's Course of Life“ **2007**, *Skin Pharmacology and Physiology*, 20, 122-132. - doi:10.1159/000098163
- [22] Candi E., Schmidt R. und Melino G.: „The Cornified Envelope: A Model of Cell Death in the Skin“ **2005**, *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 6, 328-340. - doi:10.1038/nrm1619
- [23] Bouwstra J. A. und Poncet M.: „The skin barrier in healthy and diseased state“ **2006**, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 1758, 2080-2095. - doi:10.1016/j.bbamem.2006.06.021
- [24] Zuliani T., Denis V., Noblesse E., Schnebert S., Andre P., Dumas M. und Ratinaud M.-H.: „Hydrogen peroxide-induced cell death in normal human keratinocytes is differentiation dependent“ **2005**, *Free Radical Biology & Medicine*, 38, 307-316. - doi:10.1016/j.freeradbiomed.2004.09.021
- [25] Heck D. E., Laskin D. L., Gardner C. R. und Laskin J. D.: „Epidermal growth factor suppresses nitric oxide and hydrogen peroxide production by keratinocytes. Potential role for nitric oxide in the regulation of wound healing.“ **1992**, *The Journal of Biological Chemistry*, 267, 21277-21280.
- [26] Irvine A. D., Irwin McLean W. H. und Leung D. Y. M.: „Filaggrin Mutations Associated with Skin and Allergic Diseases“ **2011**, *The New England Journal of Medicine*, 365, 1315-1327. - doi:10.1056/NEJMr1011040
- [27] Steinert P. M., Rice R. H., Roop D.R., Trus B. L. und Steven A. C.: „Complete amino acid sequence of a mouse epidermal keratin subunit

LITERATUR

- and implications for the structure of intermediate filaments“ **1983**, *Nature*, 302, 794-800. - doi:10.1038/302794a0
- [28] Valacchi G., Fortino V. und Bocci V.: „The dual action of ozone on the skin“ **2005**, *British Journal of Dermatology*, 153, 1096-1100. - doi:10.1111/j.1365-2133.2005.06939.x
- [29] Tiede R., Hirschberg J., Daeschlein G., von Woedtke T., Viöl W. und Emmert S.: „Plasma applications: a dermatological view“ **2014**, *Contributions to Plasma Physics*, 54, 118-130. - doi:10.1002/ctpp.201310061
- [30] Smith F. J. D., Irvine A. D., Terron-Kwiatkowski A., Sandilands A., Campbell L. E., Zhao Y., Liao H., Evans A. T., Goudie D. R., Lewis-Jones S., Arseculeratne G., Munro C. S., Sergeant A., O'Regan G., Bale S. J., Compton J. G., DiGiovanna J. J., Presland R. B., Fleckman P. und Irwin McLean W. H.: „Loss-of-function mutations in the gene encoding filaggrin cause ichthyosis vulgaris“ **2006**, *Nature Genetics*, 38, 337-342. - doi:10.1038/ng1743
- [31] Mildner M., Jin J., Eckhart L., Kezic S., Gruber F., Barresi C., Stremnitzer C., Buchberger M., Mlitz V., Ballaun C., Sterniczky B., Födinger D. und Tschachler E.: „Knockdown of Filaggrin Impairs Diffusion Barrier Function and Increases UV Sensitivity in a Human Skin Model“ **2010**, *Journal of Investigative Dermatology*, 130, 2286-2294. - doi:10.1038/jid.2010.115
- [32] Janzen G.: „Plasmatechnik: Grundlagen, Anwendungen, Diagnostik“ **1992**, Hüthig Buch Verlag GmbH, Heidelberg, Deutschland. - ISBN:3-7785-2086-5
- [33] Dinu E. G.: „Dielektrisch behinderte Barriereentladung für großflächige Plasmabehandlungen“ **2005**, *Dissertation*, Bergische Universität Wuppertal
- [34] Paris P., Aints M., Valk F., Plank T., Haljaste A., Kozlov K. V. und Wagner H.-E.: „Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas“ **2005**, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 38, 3894-3899. - doi:10.1088/0022-3727/38/21/010
- [35] Griem H. R.: „Validity of local thermal equilibrium in plasma spectroscopy“ **1963**, *Physical Review*, 131, 1170-1176.
- [36] Manley T.C.: „The electric characteristics of the ozonator discharge“ **1943**, *Transactions of the Electrochemical Society*, 84, 83-96.

LITERATUR

- [37] Kogelschatz U.: „Dielectric-barrier discharges: their history, discharge physics, and industrial applications“ **2003**, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 23, 1-46. - doi:10.1023/A:1022470901385
- [38] Trompeter F.-J.: „Barrierenentladungen zum Abbau von Schadstoffen in motorischen Verbrennungsabgasen“ **2001**, *Dissertation*, Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule Aachen
- [39] Meiners A.: „Entwicklung, Charakterisierung und Anwendung nichtthermischer Luft-Plasmajets“ **2011**, *Dissertation*, Georg-August-Universität Göttingen
- [40] Pflumm C.: „Simulation homogener Barriereentladungen inklusive der Elektrodenbereiche“ **2003**, *Dissertation*, Universität Karlsruhe
- [41] Trampert K.: „Ladungstransportmodell dielektrisch behinderter Entladungen“ **2008**, *Dissertation*, Universität Karlsruhe
- [42] Penetrante B. M., Hsiao M. C., Bardsley J. N., Merritt B. T., Vogtlin G. E., Kuthi A., Burkhart C. P. und Bayless J. R.: „Identification of mechanisms for decomposition of air pollutants by non-thermal plasma processing“ **1997**, *Plasma Sources Science and Technology*, 6, 251-259. - doi:10.1088/0963-0252/6/3/002
- [43] Helmke A., Wandke D., Mahmoodzada M., Weltmann K.-D. und Viöl W.: „Impact of Electrode Design, Supply Voltage and Interelectrode Distance on Safety Aspects and Characteristics of a Medical DBD Plasma Source“ **2013**, *Contributions to Plasma Physics*, 53, 623-638. - doi: 10.1002/ctpp.201200133
- [44] Wenk W.: „Elektrotherapie“ **2004**, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Deutschland. - ISBN:978-3-642-20029-8
- [45] Heinlin J., Schiffner-Rohe J., Schiffner R., Einsele-Krämer B., Landthaler M., Klein A., Zeman F., Stolz W. und Karrer S.: „A first prospective randomized controlled trial on the efficacy and safety of synchronous balneophototherapy vs. narrow-band UVB monotherapy for atopic dermatitis“ **2011**, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 25, 765-773. - doi:10.1111/j.1468-3083.2010.03857.x
- [46] Vandamme, M., Robert, E., Lerondel, S., Sarron, V., Ries, D., Dozias, S., Sobilo, J., Gosset, D., Kieda, C., Legrain, B., Pouvesle, J.-M. und Pape, A. L.: „ROS implication in a new antitumor strategy based on

LITERATUR

- non-thermal plasma“ **2012**, *International Journal of Cancer*, 130, 2185-2194. - doi: 10.1002/ijc.26252
- [47] Martínez-Sánchez G., Al-Dalain S. M., Menéndez S., Re L., Giuliani A., Candelarion-Jalil E., Alvarez H., Fernández-Montequin J. I. und Leon O. S.: „Therapeutic efficacy of ozone in patients with diabetic foot“ **2005**, *European Journal of Pharmacology*, 523, 151-161. - doi:10.1016/j.ejphar.2005.08.020
- [48] Kong M. G., Kroesen G., Morfill G., Nosenko T., Shimizu T., van Drijk J. und Zimmermann J. L.: „Plasma medicine: an introductory review“ **2009**, *New Journal of Physics*, 11, 115012. - doi:10.1088/1367-2630/11/11/115012
- [49] Kalghati S. U., Fridman G., Cooper M., Nagaraj G., Peddinghaus M., Balasubramanian M., Vasilets V., Gutsol A. F., Fridman A. und Fridman G.: „Mechanism of blood coagulation by nonthermal atmospheric pressure dielectric barrier discharge plasma“ **2007**, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 35, 1559-1566. - doi:10.1109/TPS.2007.905953
- [50] Wisthaler A. und Weschler C. J.: „Reactions of ozone with human skin lipids: sources of carbonyls, dicarbonyls, and hydroxycarbonyls in indoor air“ **2010**, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107, 6568-6575. - doi:10.1073/pnas.0904498106
- [51] Cals-Grierson M.-M. und Ormerod A. D.: „Nitric oxide function in the skin“ **2004**, *Nitric Oxide*, 10, 179-193. - doi:10.1016/j.niox.2004.04.005
- [52] Hu H., Liang H., Li J., Zhao Q. und He J.: „Study on production of inhaled nitric oxide for medical applications by pulsed discharge“ **2007**, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 35, 619-625. - doi:10.1109/TPS.2007.896782
- [53] Bruch-Gerharz D., Ruzicka T. und Kolb-Bachofen V.: „Nitric oxide in human skin: current status and future prospects“ **1998**, *Journal of Investigative Dermatology*, 110, 1-7. - doi:10.1046/j.1523-1747.1998.00084.x
- [54] Weller R., Pattullo S., Smith L., Golden M., Ormerod A. und Benjamin N.: „Nitric oxide is generated on the skin surface by reduction of sweat nitrate“ **1996**, *Journal of Investigative Dermatology*, 107, 327-331. - doi:10.1111/1523-1747.ep12363167

LITERATUR

- [55] Babaeva N. Y. und Kushner M. J.: „Intracellular electric fields produced by dielectric barrier discharge treatment of skin“ **2010**, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 43, 185206. - doi:10.1088/0022-3727/43/18/185206
- [56] Herndon C. M.: „Iontophoretic drug delivery system: focus on fentanyl“ **2007**, *Pharmacotherapy*, 27, 145-754. - doi:10.1592/phco.27.5.745
- [57] Matsumura Y. und Ananthaswamy H. N.: „Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin“ **2004**, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 195, 298-308. - doi:10.1016/j.taap.2003.08.019
- [58] Brandenburg R., Lange H., von Woedtke T., Stieber M., Kindel E., Ehlbeck J. und Weltmann K.-D.: „Antimicrobial effects of UV and VUV radiation of nonthermal plasma jets“ **2009**, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 37, 877-883. - doi:10.1109/TPS.2009.2019657
- [59] Health Physics Society: „ICNIRP Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180 nm and 400 nm (incoherent optical radiation)“ **2004**, *Health Physics*, 87, 171-186.
- [60] Weichenthal M. und Schwarz T.: „Phototherapy: how does UV work?“ **2005**, *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 21, 260-266. - doi:10.1111/j.1600-0781.2005.00173.x
- [61] Merle C., Laugel C. und Baillet-Guffroy A.: „Effect of UVA or UVB irradiation on cutaneous lipids in films or in solution“ **2010**, *Photochemistry and Photobiology*, 86, 553-562. - doi:10.1111/j.1751-1097.2009.00690.x
- [62] Rabe J. H., Mamelak A. J., McElgunn P. J. S., Morison W. L. und Sauder D. N.: „Photoaging: mechanisms and repair“ **2006**, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55, 1-19. - doi:10.1016/j.jaad.2005.05.010
- [63] Krutmann J. und Morita A.: „Mechanisms of ultraviolet (UV) B and UVA phototherapy“ **1999**, *Journal of Investigative Dermatology*, 4, 70-72. - doi:10.1038/sj.jidsp.5640185
- [64] Gambichler T., Othlinghaus N., Tomi N. S., Holland-Letz T., Boms S., Skrygan M., Altmeyer P. und Kreuter A.: „Medium-dose ultraviolet (UV) A1 vs. narrowband UVB phototherapy in atopic eczema: a randomized crossover study“ **2009**, *British Journal of Dermatology*, 160, 652-658. - doi:10.1111/j.1365-2133.2008.08984.x

LITERATUR

- [65] Boukamp P., Petrussevska R. T., Breitkreutz D., Hornung J., Markham A. und Fusenig N. E.: „Normal keratinization in a spontaneously immortalized aneuploid human keratinocyte cell line“ **1988**, *The Journal of Cell Biology*, 106, 761-771. - doi:10.1083/jcb.106.3.761
- [66] Zimmermann J. L., Shimizu T., Schmidt H.-U., Li Y.-F., Morfill G. E. und Isbary G.: „Test for bacterial resistance build-up against plasma treatment“ **2012**, *New Journal of Physics*, 14, 073037. - doi:10.1088/1367-2630/14/7/073037
- [67] Weltmann K.-D., Kindel E., Brandenburg R., Meyer C., Bussiahn R., Wilke C. und von Woedtke T.: „Atmospheric pressure plasma jet for medical therapy: plasma parameters and risk estimation“ **2009**, *Contributions to Plasma Physics*, 49, 631-640. - doi:10.1002/ctpp.200910067
- [68] Fridman G., Peddinghaus M., Ayan H., Fridmann A., Balasubramanian M., Gutsol A., Brook A. und Friedman G.: „Blood coagulation and living tissue sterilization by floating-electrode dielectric barrier discharge in air“ **2006**, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 26, 425-442. - doi:10.1007/s11090-006-9024-4
- [69] Awakowicz P., Bibinov N., Born M., Busse B., Gesche R., Helmke A., Kaemling A., Kolb-Bachofen V., Kovacs R., Kuehn S., Liebmann J., Mertens N., Niemann U., Oplaender C., Porteanu H.-E., Scherer J., Suschek C., Viöl W. und Wandke D.: „Biological Stimulation of the Human Skin Applying Health-Promoting Light and Plasma Sources“ **2009**, *Contributions to Plasma Physics*, 49, 641-647. - doi:10.1002/ctpp.200910068
- [70] Ehlbeck J., Schnabel U., Polak M., Winter J., von Woedtke T., Brandenburg R., Hagen T. und Weltmann K.-D.: „Low temperature atmospheric pressure plasma sources for microbial decontamination“ **2011**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 44, 013002. - doi:10.1088/0022-3727/44/1/013002
- [71] Tümmel S., Mertens N., Wang J. und Viöl W.: „Low temperature plasma treatment of living human cells“ **2007**, *Plasma Processes and Polymers*, 4, 465-460. - doi:10.1002/ppap.200731208
- [72] Helmke A., Grünig P., Fritz U.-M., Wandke D., Emmert S., Petersen K. und Viöl W.: „Low-temperature Plasma-a Prospective Microbicidal Tool“ **2012**, *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7, 223-230. - doi:10.2174/157489112803521995

LITERATUR

- [73] Ayan H., Staak D., Fridman G., Gutsol A., Mukhin Y., Starikovskii A., Fridman A. und Friedman G.: „Application of nanosecond-pulsed dielectric barrier discharge for biomedical treatment of topographically non-uniform surfaces“ **2009**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 42, 125202. - doi:10.1088/0022-3727/42/12/125202
- [74] Daeschlein G., von Woedtke T., Kindel E., Brandenburg R., Weltmann K.-D. und Jünger M.: „Antibacterial activity of an atmospheric pressure plasma jet against relevant wound pathogens in vitro on a simulated wound environment“ **2010**, *Plasma Processes and Polymers*, 7, 224-230. - doi: 10.1002/ppap.200900059
- [75] Mertens N., Mahmoodzada M., Helmke A., Grünig P., Laspe P., Emmert S. und Viöl W.: „Inactivation of Microorganisms Using Cold Atmospheric Pressure Plasma with Different Temporal Discharge Characteristics“ **2014**, *Plasma Processes and Polymers*, 11, 910-920. - doi: 10.1002/ppap.201300184
- [76] Helmke A., Hoffmeister D., Berge F., Emmert S., Laspe P., Mertens N., Viöl W. und Weltmann K.-D.: „Physical and microbiological characterisation of Staphylococcus epidermidis inactivation by dielectric barrier discharge plasma“ **2011**, *Plasma Processes and Polymers*, 8, 278-286. - doi:10.1002/ppap.201000168
- [77] Lackmann J.-W., Schneider S., Edengeiser E., Jarzina F., Brinckmann S., Steinborn E., Havenith M., Benedikt J. und Bandow J. E.: „Photons and particles emitted from cold atmospheric-pressure plasma inactivate bacteria and biomolecules independently and synergistically“ **2013**, *Journal of the Royal Society Interface*, 10, 20130591. - doi:10.1098/rsif.2013.0591
- [78] Emmert S., Brehmer F., Haenßle H., Helmke A., Mertens N., Ahmed R., Simon D., Wandke D., Maus-Friedrichs W., Daeschlein G., Schön M. P. und Viöl W.: „Atmospheric pressure plasma in dermatology: Ulcus treatment and much more“ **2013**, *Clinical Plasma Medicine*, 1, 24-29. - doi:10.1016/j.cpme.2012.11.002
- [79] Brehmer F., Haenssle H. A., Daeschlein G., Ahmed R., Pfeiffer S., Görtitz A., Simon D., Schoen M. P., Wandke D. und Emmert S.: „Alleviation of chronic venous leg ulcers with a hand-held dielectric barrier discharge plasma generator (PlasmaDerm® VU-2010): results of a monocentric, two-armed, open, prospective, randomized and controlled trial

LITERATUR

- (NCT01415622)“ **2014**, *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 29, 148-155. - doi:10.1111/jdv.12490
- [80] Isbary G., Heinlin J., Shimizu T., Zimmermann J. L., Morfill G., Schmidt H.-U., Monetti R., Steffes B., Bunk W., Li Y., Klaempfl T., Karrer S., Landthaler M. und Stolz W.: „Successful and safe use of 2 min cold atmospheric argon plasma in chronic wounds: results of a randomized controlled trial“ **2012**, *British Journal of Dermatology*, 167, 404-410. - doi:10.1111/j.1365-2133.2012.10923.x
- [81] Mertens N.: „Low Temperature Plasma - Treatment of Biological Tissue“, *Proceedings of the 2nd International Conference on Plasma Medicine*, San Antonio, 16-20 March **2009**.
- [82] Fridman G., Shereshevsky A., Jost M., Brooks A., Fridman A., Gutsol A., Vasilets V. und Friedman G.: „Floating electrode dielectric barrier discharge plasma in air promoting apoptotic behavior in melanoma skin cancer cell lines“ **2007**, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 27, 163-176. - doi:10.1007/s11090-007-9048-4
- [83] Barekzi N. und Laroussi M.: „Dose-dependent killing of leukemia cells by low-temperature plasma“ **2012**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 45, 422002. - doi:10.1088/0022-3727/45/42/422002
- [84] Claiborne D., McCombs G., Lemaster M., Akman M. A. und Laroussi M.: „Low-temperature atmospheric pressure plasma enhanced tooth whitening: the next-generation technology“ **2014**, *International Journal of Dental Hygiene*, 12, 108-114. - doi:10.1111/idh.12031
- [85] Jung J., Yang Y., Lee D., Fridman G., Fridman A. und Cho Y.: „Effect of dielectric barrier discharge treatment of blood plasma to improve rheological properties of blood“ **2012**, *Plasma Chemistry and Plasma Processing*, 32, 165-176. - doi:10.1007/s11090-011-9336-x
- [86] Venezia R. A., Orrico M., Houston E., Yin S.-M. und Naumova Y. Y.: „Lethal activity of nonthermal plasma sterilization against microorganisms“ **2008**, *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29, 430-436. - doi:10.1086/588003
- [87] Schroeder K., Finke B., Polak M., Lüthen F., Nebe J. B. und Rychly J.: „Gas-discharge plasma-assisted functionalization of titanium implant surfaces“ **2010**, *Materials Science Forum*, 638-642, 700-705. - doi:10.4028/www.scientific.net/MSF.638-642.700

LITERATUR

- [88] Kaemling C., Kaemling A., Tuemmel S. und Vioel W.: „Plasma treatment on finger nails prior to coating with a varnish“ **2005**, *Surface and Coatings Technology*, 200, 668-671. - doi:10.1016/j.surfcoat.2005.01.065
- [89] Foster K. W., Moy R. L. und Fincher E. F.: „Advances in plasma skin regeneration“ **2008**, *Journal of Cosmetic Dermatology*, 7, 169-179. - doi: 10.1111/j.1473-2165.2008.00385.x
- [90] Ayan H., Fridman G., Gutsol A., Vasilets V., Fridman A. und Friedman G.: „Nanosecond-pulsed uniform dielectric-barrier discharge“ **2008**, *IEEE Transactions on Plasma Science*, 36, 504-508. - doi:10.1109/TPS.2008.917947
- [91] Shao T., Long K., Zhang C., Wang J., Zhang D., Yan P. und Zhang S.: „Electrical characterization of dielectric barrier discharge driven by repetitive nanosecond pulses in atmospheric air“ **2009**, *Journal of Electrostatics*, 67, 215-221. - doi:10.1016/j.elstat.2008.12.001
- [92] Weltmann K.-D., Brandenburg R., von Woedtke T., Ehlbeck J., Foest R., Stieber M. und Kindel E.: „Antimicrobial treatment of heat sensitive products by miniaturized atmospheric pressure plasma jets (AP-PJs)“ **2008**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 41, 194008. - doi:10.1088/0022-3727/41/19/194008
- [93] Halfmann H., Denis B., Bibinov N., Wunderlich J. und Awakowicz P.: „Identification of the most efficient VUV/UV radiation for plasma based inactivation of *Bacillus atrophaeus* spores“ **2007**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 40, 5907-5911. - doi:10.1088/0022-727/40/19/019
- [94] Schneider S., Lackmann J.-W., Narberhaus F., Bandow J. E., Denis B. und Benedikt J.: „Separation of VUV/UV photons and reactive particles in the effluent of a He/O₂ atmospheric pressure plasma jet“ **2011**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 44, 295201. - doi:10.1088/0022-3727/44/29/295201
- [95] Jablonowski H., Bussiahn R., Hammer M. U., Weltmann K.-D., von Woedtke T. und Reuter S.: „Impact of plasma jet vacuum ultraviolet radiation on reactive oxygen species generation in bio-relevant liquids “ **2015**, *Physics of Plasmas*, 22, 122008. - doi:10.1063/1.4934989
- [96] Sarron V., Robert E., Dozias S., Ries D., Vandamme M. und Pouvesle J. M.: „Propagation of two symmetrical pulsed atmospheric plasma streams generated by a pulsed plasma gun“, *Proceedings of the 20th International Symposium in Plasma Chemistry*, Philadelphia, 24-29 July **2011**.

LITERATUR

- [97] Robert E., Barbosa E., Dozias S., Vandamme M., Cachoncinlle C. und Viladrosa R.: „Experimental study of a compact nanosecond plasma gun“ **2009**, *Plasma Processes and Polymers*, 6, 795-802. - doi:10.1002/ppap.200900078
- [98] Lu X., Jiang Z., Xiong Q., Tang Z., Hu X. und Pan Y.: „An 11 cm long atmospheric pressure cold plasma plume for applications of plasma medicine“ **2008**, *Applied Physics Letters*, 92, 081502. - doi: 10.1063/1.2883945
- [99] Robert E., Vandamme M., Brulle L., Lerondel S., Le Pape A., Sarron V., Ries D., Darny T., Dorzias S., Collet G., Kieda C. und Pouvesle J. M.: „Perspectives of endoscopic plasma applications“ **2013**, *Clinical Plasma Medicine*, 1, 8-16. - doi:10.1016/j.cpme.2013.10.002
- [100] Karrer S. und Arndt S.: „Plasmamedizin in der Dermatologie“ **2015**, *Hautarzt*, 66, 891-828. - doi:10.1007/s00105-015-3686-x
- [101] Lademann J., Richter H., Alborova A., Humme D. und Patzelt A.: „Risk assessment of the application of a plasma jet in dermatology“ **2009**, *Journal of Biomedical Optics*, 14, 054025. - doi:10.1117/1.3247156
- [102] Tiede R., Hirschberg J., Vioel W. und Emmert S.: „A μ s-Pulsed Dielectric Barrier Discharge Source: Physical Characterization and Biological Effects on Human Skin Fibroblasts“ **2016**, *Plasma Processes and Polymers*, 13, 775-787. - doi:10.1002/ppap.201500190
- [103] Stypczynska A., Ptasinska S., Bahnev B., Bowden M., Braithwaite N. St. J. und Mason N. J.: „The influence of amino acids on DNA damage induced by cold plasma radiation“ **2010**, *Chemical Physics Letters*, 500, 313-317. - doi:10.1016/j.cplett.2010.10.016
- [104] Fantz U.: „Basics of plasma spectroscopy“ **2006**, *Plasma Sources Science and Technology*, 15, 137-147. - doi:10.1088/0963-0252/15/4/S01
- [105] Staak D., Farouk B., Gutsol A. und Fridman A.: „Spectroscopic studies and rotational and vibrational temperature measurements of atmospheric pressure normal glow plasma discharges in air“ **2006**, *Plasma Sources Science and Technology*, 15, 818-827. - doi:10.1088/0963-0252/14/4/009
- [106] Machala Z., Janda M., Hensel K., Jedlovsky I., Lestinska L., Foltin V., Martisovits V. und Morvova M.: „Emission spectroscopy of atmospheric pressure plasmas for bio-medical and environmental applications“ **2007**, *Journal of Molecular Spectroscopy*, 243, 194-201. - doi:10.1016/j.jms.2007.03.001

LITERATUR

- [107] Laux C. O., Spence T. G. und Zare R. N.: „Optical diagnostics of atmospheric pressure air plasmas“ **2003**, *Plasma Sources Science and Technology*, 12, 125-138. - doi:10.1088/0963-0252/12/2/301
- [108] Pancheshnyi S. V.: „Comments on 'Intensity ratio of spectral bands of nitrogen as a measure of electric field strength in plasmas'“ **2006**, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 39, 1708-1710. - doi:10.1088/0022-3727/39/8/N01
- [109] Pancheshnyi S. V., Starikovskaia S. M. und Starikovskii A. Y.: „Measurements of rate constants of the N_2 ($C^3\Pi_u$, $v'=0$) and N_2^+ ($B^2\Sigma_u^+$, $v'=0$) deactivation by N_2 , O_2 , H_2 , CO and H_2O molecules in afterglow of the nanosecond discharge“ **1998**, *Chemical Physics Letters*, 294, 523-27. - doi:10.1016/S0009-2614(98)00879-3
- [110] Pancheshnyi S. V., Starikovskaia S. M. und Starikovskii A. Y.: „Collisional deactivation of N_2 ($C^3\Pi_u$, $v=0, 1, 2, 3$) states by N_2 , O_2 , H_2 and H_2O molecules“ **2000**, *Chemical Physics*, 262, 349-357. - doi:10.1016/S0301-0104(00)00338-4
- [111] Itikawa Y. und Mason N.: „Cross sections for electron collisions with water molecules“ **2005**, *Journal of Physical and Chemical Reference Data*, 34, 1-22. - doi:10.1063/1.1799251
- [112] Hagelaar G. J. M. und Pitchford L. C.: „Solving the Boltzmann equation to obtain electron transport coefficients and rate coefficients for fluid models“ **2005**, *Plasma Sources Science and Technology*, 14, 722-733. - doi:10.1088/0963-0252/14/4/011
- [113] Pancheshnyi S. V., Biagi S., Bordage M. C., Hagelaar G. J. M., Morgan W. L., Phelps A. V. und Pitchford L. C.: „The LXCat project: Electron scattering cross sections and swarm parameters for low temperature plasma modeling“ **2012**, *Chemical Physics*, 398, 148-153. - doi:10.1016/j.chemphys.2011.04.020
- [114] Benutzerhandbuch Radiometer: „Operating Manual X1-1 / X1-2 Optometer“ **2007**, Gigahertz Optik GmbH, Puchheim, Deutschland.
- [115] Benutzerhandbuch Ozone Monitor: „Operation Manual - Ozone Monitor“ **2010**, 2B Technologies, Inc., Colorado, USA.
- [116] Pflaumbaum W., Hahn N., Kolk A., Liedtke M., Maue J., Rissler J., Kaulbars U., Heyden T., Schwaß D., Wittlich M., Börner F., Zilingen H.,

LITERATUR

- Post M. und Mewes O.: „Grenzwertliste 2015 - Sicherheit und Gesundheitsschutz am Arbeitsplatz“ **2015**, Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung e.V. (DGUV), Berlin, Deutschland. - ISBN:978-3-86423-153-7
- [117] Deutsche Forschungsgemeinschaft: „MAK- und BAT-Werte-Liste 2015“ **2015**, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, Deutschland. - ISBN:978-3-527-33977-8
- [118] Shimizu T., Sakiyama Y., Graves D. B., Zimmermann J. L. und Morfill G. E.: „The dynamics of ozone generation and mode transition in air surface micro-discharge plasma at atmospheric pressure“ **2012**, *New Journal of Physics*, 14, 103028. - doi:10.1088/1367-2630/14/10/103028
- [119] Jungersted J. M., Hellgren L. I., Drachmann T., Jemec G. B. E. und Agner T.: „Validation of cyanoacrylate method for collection of stratum corneum in human skin for lipid analysis“ **2010**, *Skin Pharmacology and Physiology*, 23, 62-67. - doi:10.1159/000265676
- [120] Herkenne C., Naik A., Kalia Y. N., Hadgraft J. und Guy R. H.: „Pig ear skin ex vivo as a model for in vivo dermatopharmacokinetic studies in man“ **2006**, *Pharmaceutical Research*, 23, 1850-1856. - doi:10.1007/s11095-006-9011-8
- [121] Chen Y.-L. und Wiedmann T. S.: „Human stratum corneum lipids have a distorted orthorhombic packing at the surface of cohesive failure“ **1996**, *Journal of Investigative Dermatology*, 107, 15-19.
- [122] Jabs H.-U.: „Stratum corneum: Von der Korneobiochemie zur Korneotherapie“ **2013**, *Ästhetische Dermatologie*, 1, 14-19.
- [123] Kuchenbecker M., Bibinov N., Kaemling A., Wandke D., Awakowicz P. und Viöl W.: „Characterization of DBD plasma source for biomedical applications“ **2009**, *Journal of Physics D.: Applied Physics*, 42, 045212. - doi:10.1088/0022-3727/42/4/045212
- [124] Nielsen K. P., Zhao L., Stamnes J. J., Stamnes K. und Moan J.: „The optics of human skin: Aspects important for human health“ **2008**, *Norwegian Academy of Science and Letters*, 34-46.
- [125] Stuecker M., Struk A., Altmeyer P., Herde M., Baumgaertl H. und Luebbers D. W.: „The cutaneous uptake of atmospheric oxygen contributes significantly to the oxygen supply of human dermis and epidermis“ **2002**, *Journal of Physiology*, 538, 985-994. - doi:10.1013/jphysiol.2001.013067

LITERATUR

- [126] Benutzerhandbuch Kontaktwinkelmess-System: „Drop Shape Analysis DSA1 v 1.90 für Kontaktwinkelmess-System DSA100“ **2006**, Krüss GmbH, Hamburg, Deutschland.
- [127] Hachem J.-P., Man M.-Q., Crumrine D., Uchida Y., Brown B. E., Rogiers V., Roseeuw D., Feingold K. R. und Elias P. M.: „Sustained Serine Proteases Activity by Prolonged Increase in pH Leads to Degradation of Lipid Processing Enzymes and Profound Alterations of Barrier Function and Stratum Corneum Integrity“ **2005**, *The Journal of Investigative Dermatology*, 125, 510-520. - doi:10.1111/j.0022-202X.2005.23838.x
- [128] Hachem J.-P., Crumrine D., Fluhr J., Brown B. E., Feingold K. R. und Elias P. M.: „pH directly regulates epidermal permeability barrier homeostasis, and stratum corneum integrity/cohesion“ **2003**, *The Journal of Investigative Dermatology*, 121, 345-353. - doi:10.1046/j.1523-1747.2003.12365.x
- [129] Sobotta M. C., Liou W. L., Stöcker S., Talwar D., Oehler M., Ruppert T., Scharf A. N. D. und Dick T. P.: „Peroxiredoxin-2 and STAT3 form a redox relay for H₂O₂ signaling“ **2015**, *Nature Chemical Biology*, 11, 64-70. - doi:10.1038/nchembio.1695
- [130] Boveris A., Oshino N. und Chance B.: „The cellular production of hydrogen peroxide“ **1972**, *Biochemical Journal*, 128, 617-630. - doi:10.1042/bj1280617
- [131] Imlay J. A.: „Cellular defenses against superoxide and hydrogen peroxide“ **2008**, *Annual Review of Biochemistry*, 77, 755-776. - doi:10.1146/annurev.biochem.77.061606.161055
- [132] Rhee S. G., Chang T.-S., Bae Y. S., Lee S.-R. und Kang S. K.: „Cellular regulation by hydrogen peroxide“ **2003**, *Journal of the American Society of Nephrology*, 14, 211-215. - doi:10.1097/01.ASN.0000077404.45564.7E
- [133] Matsuoka M., Igisu H., Kohriyama K. und Inoue N.: „Suppression of Neurotoxicity of ammonia by L-carnitine“ **1991**, *Brain Research*, 567, 328-331. - doi:10.1016/0006-8993(91)90814-C
- [134] Buzanska L., Zablocka B., Dybel A., Domanska-Janik K. und Albrecht J.: „Delayed induction of apoptosis by ammonia in C6 glioma cells“ **2000**, *Neurochemistry International*, 37, 287-297. - doi:10.1016/S0197-0186(00)00030-9

LITERATUR

- [135] Smith W. P.: „Epidermal and dermal effects of topical lactic acid“ **1996**, *Journal of the American Academy of Dermatology*, 35, 388-391. - doi:10.1016/S0190-9622(96)90602-7
- [136] Wang X.: „A theory for the mechanism of action of the α -hydroxy acids applied to the skin“ **1999**, *Medical Hypotheses*, 53, 380-382. - doi:10.1054/mehy.1998.0788
- [137] Moulder J. F., Stickle W. F., Sobol P. E. und Bomben K. D.: „Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy“ **1995**, Physical Electronics, Minnesota, USA. - ISBN:0-9648124-1-X
- [138] Ratner B. D. und Castner D. G.: „Electron Spectroscopy for Chemical Analysis“ in „Surface Analysis - The Principal Techniques 2nd Edition“ **1997**, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England. - ISBN:9780470017630
- [139] Beamson G. und Briggs D.: „High Resolution XPS of Organic Polymers - The Scienta ESCA300 Database“ **1992**, John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, England. - ISBN:0-471-93592-1
- [140] Benutzerhandbuch XPS-System: „Technician’s PHI 5000 VersaProbe II Installation, Calibration, & Maintenance Manual“ **2011**, Ulvac-Phi, Inc., Kanagawa, Japan.
- [141] Benutzerhandbuch XPS-Software: „Operator’s PHI MultiPak™ Software Manual Version 9“ **2006**, Ulvac-Phi, Inc., Kanagawa, Japan.
- [142] Jablonski A., Lesiak B., Ebel H. und Ebel M. F.: „Matrix Dependence of Elastic Scattering Effects in Quantitative AES and XPS“ **1988**, *Surface and Interface Analysis*, 12, 87-92. - 10.1002/sia.740120205
- [143] Bahl M. K.: „ESCA studies on skin lipid removal by solvents and surfactants“ **1985**, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 36, 287-296.
- [144] Molina R., Espinos J. P., Yubero F., Erra P. und Gonzalez-Eliphe A. R.: „XPS analysis of down stream plasma treated wool: Influence of the nature of the gas on the surface modification of wool“ **2005**, *Applied Surface Science*, 252, 1417-1429. - doi:10.1016/j.apsusc.2005.02.147
- [145] Mutel B., Grimblot J., Dessaux O. und Goudmand P.: „XPS investigations of nitrogen-plasma treated polypropylene in a reactor coupled to the spectrometer“ **2000**, *Surface and Interface Analysis*, 30, 401-406. - doi:10.1002/1096-9918(200008)30:1<401::AID-SIA826>3.0.CO;2-G

LITERATUR

- [146] Iwasaki M., Matsudaira Y., Takeda K., Ito M., Miyamoto E., Yara T., Uehara T. und Hori M.: „Roles of oxidizing species in a nonequilibrium atmospheric-pressure pulsed remote O₂/N₂ plasma glass cleaning process“ **2008**, *Journal of Applied Physics*, 103, 023303. - doi:10.1063/1.2830982
- [147] Goddard E. D. und Harris W. C.: „Adsorbition of polymers and lipids on stratum corneum membranes as measured by ESCA“ **1987**, *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 38, 295-306.
- [148] Michel R., Subramaniam V., McArthur S. L., Bondurant B., D’Ambruoso G. D., Hall H. K., Brown M. F., Ross E. E., Saavedra S. S. und Castner D. G.: „Ultra-High Vacuum Surface Analysis Study of Rhodopsin Incorporation into Supported Lipid Bilayers“ **2008**, *Langmuir*, 24, 4901-4906. - doi:10.1021/la800037r
- [149] Paradkar M. M. und Irudayaraj J.: „Determination of cholesterol in dairy products using infrared techniques: 1. FTIR spectroscopy“ **2002**, *International Journal of Dairy Technology*, 55, 127-132. - 10.1046/j.1471-0307.2002.00044.x

Abbildungsverzeichnis

1	Flussdiagramm zur Struktur der Forschungsaktivitäten.	12
2	Schematische Darstellung der Hautstruktur, nach [15], mit freundlicher Unterstützung der Velan SkinCare GmbH.	15
3	Einfaches elektrisches Ersatzschaltbild für die Zündung einer DBD mit C_{Barriere} - Kapazität des Dielektrikums, Z_{Plasma} - Impedanz des Plasmas, Z_{Substrat} - Impedanz der Gegenelektrode und i_{Plasma} - Entladungsstrom.	37
4	Schematische Darstellung der Elektrodengeometrie; Lipidstripingsubstrat als Gegenelektrode, nach [8], mit freundlicher Unterstützung von IOP Publishing - Journal of Physics D: Applied Physics.	49
5	Seitenansicht der ns-Entladung (Pulsdauer 200 ns, max. Spannungsamplitude 11,7 kV); Ausbildung eines quasihomogenen Plasmas.	50
6	Seitenansicht der μs -Entladung I (Pulsdauer 70 μs , max. Spannungsamplitude 7,5 kV); Ausbildung eines stark filamentierten Plasmas.	50
7	Seitenansicht der μs -Entladung II (Pulsdauer 70 μs , max. Spannungsamplitude 11,6 kV); Ausbildung eines fein filamentierten Plasmas.	50
8	Strom-Spannungskennlinie der μs -Quelle I.	52
9	Strom-Spannungskennlinie der ns-Quelle.	52
10	Setup der optischen Emissionsspektroskopie, nach [8], mit freundlicher Unterstützung von IOP Publishing - Journal of Physics D: Applied Physics.	54
11	Vibrationstemperaturbestimmung aus dem 0-1 und 1-2 Vibrationsübergang des zweiten positiven Systems des N_2	56
12	Rotationstemperaturberechnung aus dem 0-0 Vibrationsübergang bei 337 nm. Für eine verbesserte Übersicht wurde ein Intensitätsshift von 0,5 eingefügt.	57
13	Elektronenenergieverteilungsfunktion im Bereich von 0 - 40 eV der verwendeten Plasmen.	60
14	Emissionsspektrum eines Luftplasmas bei Atmosphärendruck - hier μs -Quelle I - im UV-Bereich (200 - 400 nm).	61
15	Versuchsaufbau zur Bestimmung der Bestrahlungsstärke, nach [11], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Journal Natural Science.	62
16	Absolute und effektive Bestrahlungsstärke der verwendeten Entladungen.	63

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

17	Maximale Expositionszeiten der verwendeten Entladungsarten basierend auf dem Grenzwert der ICNIRP (Daten aus [59]).	64
18	Versuchsanordnung der Absorptionsspektroskopie, nach [9], mit freundlicher Unterstützung von IOP Publishing - Journal Plasma Science and Technology.	65
19	Ozon- und Stickstoffmonoxidkonzentration der verwendeten Entladungen.	65
20	Mittels Stripping-Methode hergestellte SC-Probe auf einem Aluminiumträger.	72
21	a) Schematische Darstellung einer Hautbiopsie nach Probenentnahme, b) eingefärbter Querschnitt durch das SC und die <i>Epidermis</i> , nach [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	74
22	Aufnahme eines eingefärbten Lipidabrisses mittels Fluoreszenzmikroskopie [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	75
23	REM-Aufnahme eines Lipidabrisses, a) bei 100-facher Vergrößerung, b) bei 1000-facher Vergrößerung [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	76
24	IR-Aufnahme der Lipidproben nach einminütiger Plasmabehandlung, a) μ s-Quelle I, b) ns-Quelle [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	77
25	Absorptionsverhalten Lipidstripping im UV-Bereich und Emissionsspektrum der μ s-Quelle I, nach [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	78
26	Zeitlicher Verlauf des pH-Wertes einer SC-Probe nach einminütiger Plasmabehandlung mit μ s-Quelle I und ns-Quelle, nach [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	80
27	Gegenüberstellung des kutanen pH-Wertes auf SC-Probe und menschlicher Haut (Daten aus [81]) bei vergleichbarer Plasmabehandlung, nach [10], mit freundlicher Unterstützung von Scientific Research Publishing Inc. - Open Journal of Applied Sciences.	80
28	Schematische Darstellung der Tropfenbildung und die daraus resultierenden Kontaktwinkel für eine gut (links) bzw. schlecht (rechts) benetzbare Oberfläche.	86

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

29	Kontaktwinkel gemessen auf SC-Modellen vor bzw. nach einminütiger Plasmabehandlung; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen behandelter Oberfläche und Referenzprobe wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$).	87
30	Reflektometrische Bestimmung der Nitritkonzentration auf SC-Modell und menschlicher Haut; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$), -/- ($p > 0,05$).	89
31	Reflektometrische Bestimmung der Nitratkonzentration auf SC-Modell und menschlicher Haut; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$).	89
32	Reflektometrische Bestimmung der Wasserstoffperoxidkonzentration; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit ** ($p \leq 0,01$), -/- ($p > 0,05$).	92
33	Reflektometrisch gemessene Ammoniumkonzentration; statistische Unterschiede (Signifikanzniveau) zwischen SC-Modell und menschlicher Haut wurden markiert mit *** ($p \leq 0,001$).	94
34	Exemplarisches XPS-Übersichtsspektrum einer plasmabehandelten Lipidprobe einschließlich C1s, N1s und O1s Photoelektronenpeaks sowie der KLL-Augerlinienserie.	102
35	Links: C1s Detailpeak des SC beaufschlagt mit den verschiedenen Entladungsarten. Rechts: Differenzspektren des C1s-Peaks; Darstellung der Differenz zwischen plasmabehandeltem Substrat und Referenzprobe.	109
36	Detailspektrum des 1s-Orbitals des Stickstoffs einer SC-Probe mit und ohne vorige Plasmabehandlung.	110
37	Detailspektrum des 1s-Orbitals des Sauerstoffs einer SC-Probe mit und ohne vorige Plasmabehandlung.	111
38	Schwefel 2p Detailpeak: SC-Substrat nach einminütiger ns-Plasmabehandlung.	113

A Abkürzungs- & Symbolverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis:

ATP	- Adenosintriphosphat
C1s	- Photoelektronenpeak des Kohlenstoff 1s-Orbitals
Dapi	- Farbstoff <i>Diamidin-phenylindol</i>
DBD	- Dielektrisch Behinderte Entladung, engl.: „ <i>Dielectric Barrier Discharge</i> “
DGUV	- Deutsche Gesetzliche Unfallversicherung
DNA	- Desoxyribonukleinsäure
EEDF	- Elektronenenergieverteilungsfunktion, engl.: „ <i>Electron Energy Distribution Function</i> “
EGF	- Epidermale Wachstumsfaktoren, engl.: „ <i>Epidermal Growth Factors</i> “
FLG	- Filaggrin
HPTLC	- Hochleistungsdünnschichtchromatographie engl.: „ <i>High Performance Thin-Layer Chromatography</i> “
H ₂ O ₂	- Wasserstoffperoxid
ICNIRP	- Kommission für den Schutz vor nichtionisierender Strahlung, engl.: „ <i>International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection</i> “
IR	- Infrarot
ITO	- Indiumzinnoxid, engl.: „ <i>Indium Tin Oxide</i> “
Nile Red	- Farbstoff <i>Diethylamino-benzophenoxazinon</i>
N1s	- Photoelektronenpeak des Stickstoff 1s-Orbitals
N ₂	- Molekularer Stickstoff
NH ₄ ⁺	- Ammonium
NO	- Stickstoffmonoxid
NO ₂ ⁻	- Nitrit
NO ₃ ⁻	- Nitrat
OES	- Optische Emissionsspektroskopie
O1s	- Photoelektronenpeak des Sauerstoff 1s-Orbitals
O ₂	- Molekularer Sauerstoff
O ₃	- Ozon
PAPS	- Gepulste Plasma-Streamer bei Atmosphärendruck, engl.: „ <i>Pulsed Atmospheric Plasma Streams</i> “
PLTE	- Partielles Lokales Thermodynamisches Gleichgewicht, engl.: „ <i>Partial Local Thermodynamic Equilibrium</i> “

A ABKÜRZUNGS- & SYMBOLVERZEICHNIS

REM	- Rasterelektronenmikroskopie
RNS	- Reaktive Stickstoffspezies, engl.: „ <i>Reactive Nitrogen Species</i> “
ROS	- Reaktive Sauerstoffspezies, engl.: „ <i>Reactive Oxygen Species</i> “
SC	- <i>Stratum corneum</i>
S2p	- Photoelektronenpeak des Schwefel 2p-Orbitals
Td	- Einheit Townsend (Td = Torr · cm)
TEWL	- Transepidermaler Wasserverlust, engl.: „ <i>Transepidermal Water Loss</i> “
T-Test	- Student-Verteilung
VDI	- Verein Deutscher Ingenieure
UHV	- Ultrahochvakuum
UV	- Ultraviolett
UVA	- Ultraviolettstrahlung (320 - 400 nm)
UVB	- Ultraviolettstrahlung (280 - 320 nm)
UVC	- Ultraviolettstrahlung (200 - 280 nm)
VIS	- Sichtbarer Spektralbereich, engl.: „ <i>Visible</i> “
VUV	- Vakuumultraviolettstrahlung (100 - 200 nm)
WHO	- Weltgesundheitsorganisation, engl.: „ <i>World Health Organisation</i> “
XPS	- Röntgenphotoelektronenspektroskopie, engl.: „ <i>X-ray Photoelectron Spectroscopy</i> “

Symbolverzeichnis:

Allgemeine Formelzeichen:

c	- Konzentration
$d_{\text{Absorption}}$	- Absorptionslänge
D_{max}	- Maximal zulässige Strahlungsdosis
E	- Elektrisches Feld
E_{B}	- Bindungsenergie
E_{H}	- Ionisierungsenergie des Wasserstoffs
E_{kin}	- Kinetische Energie
$E(\lambda)$	- Emissionsspektrum
f	- Frequenz
g	- g-Faktor für strahlungslose Verluste
I	- Intensität

A ABKÜRZUNGS- & SYMBOLVERZEICHNIS

I_{abs}	- Absolute Bestrahlungsstärke
I_{eff}	- Effektive Strahlungsintensität
I_0	- Anfangsintensität
$I(\lambda)$	- Spektral aufgelöste Intensitätsverteilung
k_{conv}	- Ratenkoeffizient für assoziatives Attachment
k_{em}	- Ratenkoeffizient für Emission
k_{q}	- Ratenkoeffizient für Abregung durch Stöße mit Molekülen
n	- Hauptquantenzahl
P	- Leistung
p	- Druck
$S(\lambda)$	- Spektraler Gewichtungsfaktor
T	- Temperatur
$T(\lambda)$	- Transmissionsfunktion
V	- Volumen
v	- Geschwindigkeit
z	- Schwerpunktladung des Systems
λ	- Wellenlänge
σ	- Wechselwirkungsquerschnitt
τ_0	- Strahlungslebensdauer
Φ	- Gerätespezifischer Korrekturfaktor

Naturkonstanten:

e	- Eulersche Zahl
h	- Plancksches Wirkungsquantum
k	- Boltzmannkonstante
m_{e}	- Elektronenmasse
R_{m}	- Molare Gaskonstante

Plasmakenngößen:

C_{Barriere}	- Kapazität Dielektrikum
d	- Elektrodenabstand
E_{i}	- Ionisierungsenergie
E/p bzw. E/n_{Gas}	- Reduzierte elektrische Feldstärke
$F(\epsilon)$	- Elektronenenergieverteilungsfunktion
f_{pw}	- Pulswiederholfrequenz
i_{Plasma}	- Entladungsstrom
N_{e}	- Elektronenanzahl

A ABKÜRZUNGS- & SYMBOLVERZEICHNIS

N_i	-	Ionenanzahl
N_0	-	Neutralteilchenanzahl
n_e	-	Elektronendichte
n_{Gas}	-	Gasteilchendichte
n_i	-	Ionendichte
n_0	-	Neutralgasdichte
n_{N_2}	-	Relative Stickstoffkonzentration
n_{O_2}	-	Relative Sauerstoffkonzentration
R	-	Theoretischer Intensitätskoeffizient
T_E	-	Elektronentemperatur
T_I	-	Ionentemperatur
T_N	-	Neutralgastemperatur
t_{max}	-	Maximale Expositionszeit
U_d	-	Durchschlagspannung
U_{Gas}	-	Spannungsabfall über dem Gasspalt
x	-	Ionisierungsgrad
Z_{Plasma}	-	Impedanz Plasma
Z_{Substrat}	-	Impedanz Substrat
α	-	Townsend-Ionisationskoeffizient
γ	-	Zweiter Townsendkoeffizient
ϵ	-	Mittlere Elektronenenergie
λ_F	-	Mittlere freie Weglänge

B Publikationen & Vorträge

Publikationen:

- 2012** Marschewski M., Hirschberg J., Omairi T., Höfft O., Viöl W., Emmert S. und Maus-Friedrichs W.: „Electron spectroscopic analysis of human lipid skin barrier: cold atmospheric plasma-induced changes in lipid composition“, *Experimental Dermatology*, 21, S. 921-925.
- 2013** Hirschberg J., Omairi T., Mertens N., Helmke A., Emmert S. und Viöl W.: „Influence of excitation pulse duration of dielectric barrier discharges on biomedical applications“, *Journal of Physics D: Applied Physics*, 46, 165201.
- 2014** Tiede R., Hirschberg J., Daeschlein G., von Woedtke T., Viöl W. und Emmert S.: „Plasma applications: a dermatological view“, *Contributions to Plasma Physics*, 54, S. 118-130.
- 2015** Dahle S., Hirschberg J., Viöl W. und Maus-Friedrichs W.: „Gas purification by the plasma-oxidation of a rotating sacrificial electrode“, *Plasma Sources Science and Technology*, 24, 035021.
- Hirschberg J., Gerhard C., Braun A., Grottker S., Krupp A., Emmert S. und Viöl W.: „Validation of the suitability of stripped lipid as a skin model in plasma medical investigations“, *Open Journal of Applied Science*, 5, S. 40-49.
- 2016** Hirschberg J., Loewenthal L., Krupp A., Emmert S. und Viöl W.: „Plasma induced changes in human lipid composition as revealed through XPS-Analysis“, *Natural Science*, 8, S. 125-137.

B PUBLIKATIONEN & VORTRÄGE

Peters F., Hirschberg J., Mertens N., Wieneke S. und Viöl W.: „Comparison of nitric oxide concentrations in μ s- and ns-atmospheric pressure plasmas by UV absorption spectroscopy“, *Plasma Science and Technology*, 18, S. 406-411.

Tiede R., Hirschberg J., Viöl W. und Emmert S.: „A μ s-pulsed dielectric barrier discharge source: Physical characterisation and biological effects on human skin fibroblasts“, *Plasma Processes and Polymers*, 13, S. 775-787.

Vorträge:

- 04.07.2013** „Wirkung dielektrisch behinderter Atmosphärendruck-plasmen auf kutane Lipidsysteme“, Seminar: Plasma-Oberflächen-Behandlungen und -Beschichtungen der TU Clausthal, Clausthal-Zellerfeld.
- 07.01.2014** „Plasmamedizin“ und „Plasmadiagnostik“, Fakultätskolloquium der Hochschule für angewandte Wissenschaft und Kunst, Göttingen.
- 04.07.2014** „Lipid-Stripping als Modell der Haut in plasmamedizinischen Studie“, Seminar: Plasma-Oberflächen-Behandlungen und -Beschichtungen der TU Clausthal, Braunschweig.
- 31.07.2015** „Plasmadiagnostik“, Seminar: Plasma-Oberflächen-Behandlungen und -Beschichtungen der TU Clausthal, Göttingen.

C Lebenslauf

Persönliche Angaben

Name: Joanna Hirschberg
Anschrift: Bertha-von-Suttner-Straße 18
37085 Göttingen

Email: Joanna.Hirschberg@gmail.com

Geburtsdatum: 16.05.1987
Geburtsort: Braunschweig
Familienstand: ledig, keine Kinder



Ausbildung

Schule:

21.06.2006 Abschluss: Allgemeine Hochschulreife

Studium:

09.2006 - 08.2009 Immatrikulation an der Hochschule HAWK Göttingen,
Fakultät N, Bachelorstudiengang „Physikalische Techno-
logien“ (B.Sc.).

Thema der Abschlussarbeit: „Untersuchungen zur
Eignung von Schichtkompositen als Kathoden für
Lithium-Ionen-Zellen“ in Zusammenarbeit mit der Pra-
xisstelle Laser-Laboratorium Göttingen e.V..
Abschlussnote: 1.3 (Bachelorarbeit: 1.0)

C LEBENS LAUF

- 09.2009 - 04.2012 Immatrikulation an der Hochschule HAWK Göttingen, Fakultät N, Masterstudiengang „Optical Engineering and Photonics“ (M.Sc.).
- Thema der Abschlussarbeit: „Charakterisierung einer medizinischen Plasmaquelle mit μ s- und ns-Anregung“.
Abschlussnote: 1.0 (Masterarbeit: 1.0)
- seit 10.2012 Immatrikulation an der Technischen Universität Clausthal, Promotionsstudiengang „Materialwissenschaften“
- Thema der Promotion: „Grundlegende Untersuchungen zur Wirkung kalter Plasmen auf kutane Lipidsysteme“.

Berufliche Tätigkeiten

- 2007 Praktikum in der Firma Metrolux - optische Messtechnik GmbH
- 07.2008 - 07.2009 Studentische Hilfskraft an der HAWK (Arbeitsgruppe Prof. Viöl) im Bereich der Laser- und Plasmatechnologie
- 02.2009 - 12.2010 Dozentin für Physik (Akustik) im Bildungswerk der Niedersächsischen Wirtschaft (BNW)
- 09.2009 - 01.2012 Wissenschaftliche Hilfskraft an der HAWK (Tutorentätigkeit im Bereich Mathematik und Physik)
- 04.2011 - 03.2012 Wissenschaftliche Hilfskraft an der HAWK (Arbeitsgruppe Prof. Viöl) im Bereich der Laser- und Plasmatechnologie
- seit 05.2012 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der HAWK (Arbeitsgruppe Prof. Viöl) im Bereich der Laser- und Plasmatechnologie
- 09.2012 - 01.2016 Lehraufträge an der HAWK im Fach „Physik 1 Tutorium“, „Praktikum Technische Optik“ und „Übung Physik 1“

C LEBENSLAUF

10.2013 - 09.2015 Wissenschaftliche Mitarbeiterin des Anwendungszentrums für Plasma und Photonic des Fraunhofer-Institutes für Schicht- und Oberflächentechnik

Stipendien & Auszeichnungen

06.2006 - 06.2007 Abiturpreis der DPG

03.2008 - 03.2012 Stipendium der Studienstiftung des deutschen Volkes

05.2012 Beste Studentin des Masterstudiengangs Optical Engineering / Photonics

11.2013 Niedersächsischer Wissenschaftspreis

10.2013 - 09.2015 Promotionsstipendium „TALENTA“ der Fraunhofer-Gesellschaft